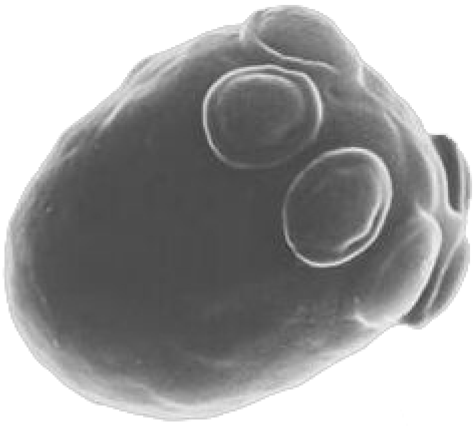
К 250-летию Московского государственного университета
им. М.В.Ломоносова

И.П.Бабьева, И.Ю.Чернов

Биология дрожжей



УДК 576.8

Рецензенты:
докт. биол. наук Д.Г.Звягинцев
докт. биол. наук Ю.Т.Дьяков

При финансовом содействии
гранта Президента Российской Федерации для поддержки
ведущих научных школ Российской Федерации

Бабьева И.П., Чернов И.Ю. Биология дрожжей. М.: ..., 2004, ... с.

В учебном пособии представлены сведения по основным разделам зимологии - науки о дрожжевых грибах. Показано, как менялись представления о природе дрожжей от их открытия до настоящего времени. Обсуждается значение дрожжей в качестве модели для изучения многих вопросов клеточной биологии. Рассматриваются особенности строения дрожжевой клетки, химический состав и функции основных клеточных структур, особенности морфологии дрожжевых грибов, типы их размножения. Анализируются примеры жизненных циклов наиболее изученных видов. При анализе особенностей физиологии дрожжей особое внимание уделяется соотношению дыхательного и бродильного типов метаболизма, а также их экофизиологической характеристике. Наиболее подробно рассматриваются закономерности расселения дрожжей в природных местообитаниях, биотические взаимодействия дрожжей и других организмов, особенности географического распространения. Данные, приводимые в этом разделе, накоплены авторами в результате многолетней работы по изучению экологии дрожжей в природных местообитаниях. Обсуждается функциональная роль дрожжей в экосистемных процессах. Дается обзор практического использования дрожжей как в традиционных бродильных производствах, так и в современной биотехнологии. В заключении приводится систематический обзор родов дрожжевых грибов и обсуждаются последние достижения в их классификации.

Для студентов биологических факультетов и факультетов почвоведения университетов.

Содержание

ВВЕДЕНИЕ ... 5

ЗАРОЖДЕНИЕ И РАЗВИТИЕ ЗНАНИЙ О ДРОЖЖАХ ... 7

ДРОЖЖЕВАЯ КЛЕТКА. ЦИТОЛОГИЯ ... 11
- Компоненты дрожжевой клетки ... 12
- Изменения клеточных структур в онтогенезе ... 21
- Цитологические особенности дрожжей в различных условиях роста ... 22

МОРФОЛОГИЯ И БЕСПОЛОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ ... 26
- Микроморфология дрожжей ... 28
- Клеточный цикл ... 40

ПОЛОВОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ И ЖИЗНЕННЫЕ ЦИКЛЫ ДРОЖЖЕЙ 42
- Аскомицетовые дрожжи ... 45
- Базидиомицетовые дрожжи ... 52

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ... 57
- Спиртовое брожение ... 58
- Дыхание ... 61
- Вторичные продукты метаболизма ... 64
- Источники азота ... 65

ЛИМИТИРУЮЩИЕ ФАКТОРЫ ... 68

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ В ПРИРОДЕ ... 75
- Специфические локусы развития дрожжей ... 77
- Дрожжи на растениях, растительных остатках и в почве ... 86
- Географические закономерности в распространении дрожжей ... 99
- Функции дрожжевых грибов в природных экосистемах ... 110

ДРОЖЖИ - ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА ... 115
- Кандидоз ... 115
- Криптококкоз ... 117
- Malassezia ... 120

ПРОМЫШЛЕННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ ... 122
- Традиционные процессы ... 122
- Дрожжи в современной биотехнологии ... 128

СИСТЕМАТИКА ДРОЖЖЕЙ 134
Концепция вида у дрожжей 136
Признаки и критерии, используемые в систематике дрожжей 138
Схема стандартного описания вида у дрожжей 145
Особенности систематики анаморфных дрожжей 147
Классификация дрожжей 149
Идентификация дрожжей 216
Коллекции дрожжей 223

ЛИТЕРАТУРА 226

НЕКОТОРЫЕ ИНТЕРНЕТ САЙТЫ, ПОЛЕЗНЫЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИИ ДРОЖЖЕЙ 227

ИСТОЧНИКИ ЗАИМСТВОВАННЫХ ИЛЛЮСТРАЦИЙ 229

УКАЗАТЕЛЬ ТЕРМИНОВ 230

УКАЗАТЕЛЬ ЛАТИНСКИХ НАЗВАНИЙ 236

ВВЕДЕНИЕ

Чтобы описать сущность и перспективы развития науки о дрожжах - зимологии, следует в первую очередь дать определение самому объекту этой науки - дрожжевым организмам. Казалось бы, вопрос о том, что такое дрожжи, весьма простой: о дрожжах знает каждый, без них не приготовить кислого теста, вина, пива. И все же дать научное определение дрожжам и четко очертить границы этой группы микроорганизмов становится все труднее по мере расширения наших знаний об этих микроскопических существах, которые включают в царство *Mycota*.

То, что дрожжи - это грибы, стало понятным уже с начала первых научных описаний этих организмов, сделанных в первой половине прошлого века. Несмотря на одноклеточное строение, внешне более сходное с крупными бактериями, чем с мицелиальными грибами, дрожжи по ультраструктурной организации клетки и способам бесполого и полового размножения сразу же были отнесены к грибам. Однако изучали их, как правило, не микологи, а микробиологи. Причина этого заключается в том, что рост дрожжей на плотных средах очень сходен с бактериальным. Кроме того, человека всегда привлекало свойство дрожжей вызывать спиртовое брожение, и, следовательно, в работе с дрожжами преобладали физиолого-биохимические подходы и методы. Микологи же исторически были связаны с ботаниками, так как долгое время грибы считали низшими растениями, и поэтому в основе их изучения всегда были методы описательной морфологии, а не физиологии. Все это привело к тому, что дрожжи были искусственно оторваны от всех остальных грибов, и хотя им «повезло», что они были объектами работ таких корифеев микробиологии, как Луи Пастер, А.Клюйвер, Г.А.Надсон, в таксономическом отношении были допущены серьезные ошибки, которые и в наше время исправлять не просто. Под сильным влиянием бродильных свойств некоторых видов дрожжей эту группу организмов долгое время ограничивали одноклеточными грибами, которые образуют аскоспоры и способны вызывать спиртовое брожение. Все другие грибы с одноклеточной стадией в жизненном цикле называли дрожжеподобными грибами. Только в самом конце XX в. наука о дрожжах полностью вернулась в микологию, а представление об объектах зимологии значительно расширилось.

Сейчас к дрожжам принято относить все те грибы, которые способны вегетативно размножаться в одноклеточной форме, независимо от того, имеют ли они мицелиальную фазу в жизненном цикле и родственны аско-

мицетовым или базидиомицетовым грибам. Среди дрожжей сейчас рассматривают даже гаплоидные одноклеточные стадии таких грибов, которые образуют макроскопические плодовые тела. При таком понимании дрожжей, их границы с мицелиальными грибами становятся расплывчатыми, а классификация сливается с общей системой грибов.

В связи с новым подходом к трактовке группы дрожжей существенно расширяется и поиск среди них тех биологических способностей, которые могут быть полезными для человека. Наряду с традиционными процессами использования дрожжей в бродильных производствах, в пищевой промышленности и для получения кормовых препаратов на разных источниках сырья, разрабатываются новые пути применения дрожжей для синтеза многих ценных веществ, таких как полисахариды, ферменты и коферменты, микоцины, витамины, органические кислоты, полиолы, каротиноиды и многие другие соединения. Дрожжи используются как векторные системы при разработке биотехнологических процессов производства инсулина, интерферона, гетерологичных белков.

По-новому следует оценивать и роль дрожжей в природных экосистемах. Например, считавшиеся долго безвредными комменсалами многие эпифитные дрожжи, обильно обсеменяющие зеленые части растений, могут оказаться не такими уж «невинными», если учесть, что они представляют собой лишь гаплоидную стадию в жизненном цикле организмов, близко родственных фитопатогенным головневым или ржавчинным грибам. И, наоборот, очень опасные патогены для человека - дрожжи, вызывающие болезнь мозга - криптококкоз - в природе имеют сапротрофную стадию и легко выделяются из мертвых органических субстратов, таких как помет голубей. Из этих примеров видно, что для понимания экологических функций дрожжей необходимо изучение полных жизненных циклов каждого вида. Однаружены и «почвенные» дрожжи с особыми функциями, важными для образования почвенной структуры. Неисчерпаемы по многообразию и связи дрожжей с животными.

Настоящая книга - это краткая сводка современного состояния наших знаний о разных сторонах жизни дрожжевых грибов: их морфологии и цитологии, способах размножения и жизненных циклах, физиологии и биохимии, экологии и географии, таксономии, а также об основных направлениях их промышленного использования.

ЗАРОЖДЕНИЕ И РАЗВИТИЕ ЗНАНИЙ О ДРОЖЖАХ

Всю историю тесного общения человека со своими постоянными одноклеточными микроскопическими спутниками - дрожжами можно условно разделить на отдельные периоды (табл. 1).

В первый, **донаучный** период, начало которого уходит корнями в XX в. до н.э., человек сумел «приручить» дрожжи, даже не зная об их существовании. Дрожжи работали на человека, производя различные бодрящие напитки, содержащие этиловый спирт. Напиток, напоминающий современное пиво («буза»), был известен уже в Древнем Египте. Там же возник способ приготовления хлеба из кислого дрожжевого теста. Это стало ясно после того, как в раскопках храма и гробниц фараона Эхнатона и его супруги – легендарной Нефертити, живших во второй половине XIV в. до н. э., археологи натолкнулись на скопление форм для выпечки хлеба и кувшинов для пивоварения. В Китае уже в X в. до н.э. умели отгонять спирт из дрожжевой бражки для получения крепких спиртных напитков. Европейцы пристрастились к спиртному несколько позже: производство виски началось в Ирландии в XI в., а в XIII в. в Европе широко распространилось пивоварение. Венцом этого периода можно считать первое описание дрожжей, которые в 1680 г. увидел в капле бродящего пива под микроскопом голландец Антони ван Левенгук (рис. 1). Хотя он и не связал процесс образования пива с жизнью этих мельчайших «анималькулей», но его рисунки до сих пор поражают точностью изображения дрожжевой клетки. После этого ничего нового о дрожжах не появлялось целых 150 лет.

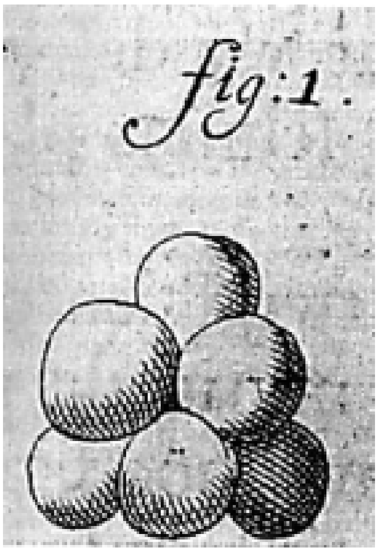


Рис. 1. Рисунок Левенгука: клетки дрожжей в капле бродящего пива – первое наблюдение дрожжей человеком.

Второй период занимает весь XIX век, начиная с 30-х годов. Это **период зарождения научных знаний о дрожжах**, когда были сделаны первые научные описания дрожжей (Каньяр де Латур во Франции, Теодор Шванн и Фридрих Кютцинг в Германии), способов их размножения, спорообразования, жизненных циклов. Именно в этот период дрожжи были названы Мейеном сахарными грибами - *Saccharomyces*.

Таблица 1. Исторический путь развития зимологии

Этап	Основная характеристика	Сроки	События, люди, страны
1. «Эмбриональный». Донаучный.	Использование человеком продуктов жизнедеятельности дрожжей без знания самих «виновников».	до IXX в.	Получение хмельных напитков. Египет, 6000 л. до н.э. Выпечка кислого хлеба, Египет. < 1200 л. до н.э. Отгонка спирта, Китай. 1000 л. до н.э. Возникновение пивоварения. Европа (монастыри в Германии, 1200-130 Производство виски. Ирландия, 1192 Первые зарисовки клеток дрожжей. Левенгук (Голландия), 1680
2. «Детство». Рождение науки на уровне накопления фактов. Первичная простота.	Дрожжи - одноклеточные грибы и возбудители спиртового брожения.	1832 - до конца века ~ 70 лет	Первые описания дрожжей как грибов, Т.Шванн, М.Я.Шлейден, Ш.К де Латур, Х.де Фриз, 1832 Первое название - *Saccharomyces cerevisiae*. Мейен (Германия), 1838 Спиртовое брожение как энергетический процесс. Л.Пастер (Франция), 1 Первое описание жизненного цикла дрожжей. Г.А. Де Бари (Германия), 1 Получение чистых культур для пивоварения. Э.Хансен (Дания), 1881 Наблюдение брожения в бесклеточных экстрактах дрожжей. Возникн энзимологии. Бюхнер (Германия), 1897 Первая классификация дрожжей. Э.Хансен, А.Клёкер (Дания), 1896
3. «Зрелость». Цветущая сложность.	Окончательное становление и дифференциация зимологии, появление «ветвей».	Первая половина XX в.	Эволюционные принципы в систематике дрожжей. А.Гийермон (Франци Организация коллекции: зарождение CBS. A.J.Клюйвер (Голландия) Открытие мутагенеза у дрожжей. Г.А.Надсон, С.Г.Филиппов (СССР) Генетика дрожжей. Смена ядерных фаз. Гетероталлизм. Винге (Дания), 1 Цитология дрожжей (световая микроскопия). М.Н.Мейсель (СССР) Первые определители. В.И.Кудрявцев (СССР), Дж.Лоддер (Голланди
4. «Старение» Вторичное смесительное упрощение.	Дальнейшая дифференциация и научная интеграция. «Стыки».	Вторая половина XX в.	Жизненный цикл у базидиомицетовых дрожжей. И.Банно (Япония), 196 Признание полифилетичности дрожжей, Дж.А. вон Аркс (Голландия Электронная микроскопия и цитология. М.Н.Мейсель, В.И.Бирюзова (СС Создание международной организации ISY Формирование почвенной зимологии. И.П.Бабьева (СССР) Серия коллективных определителей. Голландия, Англия, США Молекулярная биология дрожжей, новые разделы биотехнологии

Важнейшим событием этого периода было исследование Луи Пастером в 1860-76 гг. спиртового брожения и доказательство его биохимической природы. В 1881 г. Эмилем Хансеном в Дании были впервые получены чистые культуры дрожжей. Использование чистых культур преобразило виноделие и пивоварение, превратив их из вида искусства в крупную отрасль промышленности. Исследования братьев Бюхнер в Германии (1890-е гг.) по сбраживанию сахара бесклеточными экстрактами дрожжей положили начало развитию энзимологии и биохимии. В самом конце XIX в. Э.Хансеном и А.Клекером в Дании была создана первая классификация дрожжей.

Третий период охватывает XX век. Он характеризуется **дифференциацией научных направлений** в области изучения дрожжей. В первой четверти прошлого века создается эволюционно-филогенетическое направление в систематике дрожжей (А.Гийермон во Франции, 1909-28 гг.), организуется первая **коллекция** дрожжевых культур (А.Клюйвер в Голландии, 1920-е гг.). С 1931 г. началось издание серии **определителей дрожжей** в Дельфте (Голландия). Эти определители в таксономии дрожжей имели такое же значение, как определители Берги в бактериологии. В 1954 г. вышел первый отечественный определитель дрожжей В.И.Кудрявцева.

Открытие радиационного мутагенеза Г.А.Надсоном и С.Г.Филипповым в 1925 г. в СССР заложило основы радиобиологии и стимулировало исследования по **генетике дрожжей**. Они касались доказательств существования чередования поколений в жизненном цикле дрожжей с изменением плоидности. Было показано, что аскоспоры *Saccharomyces cerevisiae* гаплоидны, и конъюгация спор или их потомков приводит к восстановлению диплоидного состояния, характерного для вегетативной стадии сахаромицетов. О.Винге разработал метод тетрадного анализа с изоляцией 4 спор из одного аска с помощью микроманипулятора. Впоследствии дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* оказались прекрасным модельным объектом для генетических исследований, и со времени этих работ генетика дрожжей развивалась очень бурно. Были выполнены тысячи работ как теоретического, так и прикладного характера, касающиеся конструирования генетически измененных штаммов дрожжей для биотехнологической промышленности.

Вторая половина XX в. отличается еще **большей дифференциацией разделов зимологии**, выделением новых направлений. Возникают функциональная морфология и цитология дрожжей (М.Н.Мейсель, В.И.Бирюзова в СССР, Матиль в Швейцарии, Е.Штрейблова в Чехословакии), молекулярная генетика и генетическая систематика (работы японских, американских, канадских ученых, в СССР - исследования Г.И.Наумова), почвенная зимология (работы в 50-60-х гг. Ди Менны в Новой Зеландии, И.П.Бабьевой в СССР), морская зимология (А.Е.Крисс, М.И.Новожилова в СССР, Дж.Фелл в США), экология и закономерности географического распределения дрожжей (Г.Фафф в США, М.А.Лачанс в Канаде, И.Ю.Чернов в России). Появляются новые отрасли на стыке разных направлений, растут запросы и потребности биотехнологии, широко использующей дрожжевые организмы в самых разных производствах. Дрожжи все больше вовлекаются в работы по созданию векторных систем для получения ценных продуктов биологического синтеза.

Особенно сильное влияние на изучение дрожжей, также как и большинства других групп микроорганизмов, оказало бурное развитие в конце XX в. молекулярной биологии. В современной систематике дрожжей широко используются методы геносистематики, основанные на непосредственном сравнении геномов и секвенировании нуклеотидных последовательностей. Применение единых молекулярно-биологических методов позволило еще больше сблизить подходы к таксономии дрожжевых и мицелиальных грибов, установить связи между дрожжевыми анаморфами и мицелиальными телеоморфами, разработать новые критерии для создания единой филогенетической системы всего царства *Mycota*. В то же время, новые знания породили и новые научные проблемы, в частности, проблему соотношения новейших молекулярных методов с традиционными, основанными на морфологических и физиологических подходах к изучению дрожжей. Практически полностью расшифрован геном *Saccharomyces cerevisiae*, что открывает огромные перспективы геномики дрожжей, новые горизонты их биотехнологического использования. Таким образом, наука о дрожжах, проделав более чем полуторавековой путь, продолжает интенсивно развиваться и в XXI в.

ДРОЖЖЕВАЯ КЛЕТКА. ЦИТОЛОГИЯ

Дрожжевая клетка (рис. 2) имеет все основные структуры, которые присущи любой эукариотической клетке, но в то же время она обладает особенностями, свойственными грибам, а именно, сочетанием признаков как растительной, так и животной клеток: клеточная стенка у них ригидная, как у растений, но в клетке отсутствуют хлоропласты и накапливается гликоген, как у животных.

Такие структуры, как ядро с двойной мембраной, митохондрии, эндоплазматический ретикулум и его производные, обнаруживаются в клетках всех дрожжей во все периоды клеточного цикла. Но в целом очень существенные различия наблюдаются в ультраструктурной организации и поведении отдельных органелл в зависимости от возраста клетки, внешних условий, стадии онтогенеза. Следует также отметить, что большинство сведений по цитологии дрожжей получено при изучении клеток *Saccharomyces cerevisiae* и некоторых других видов аско-

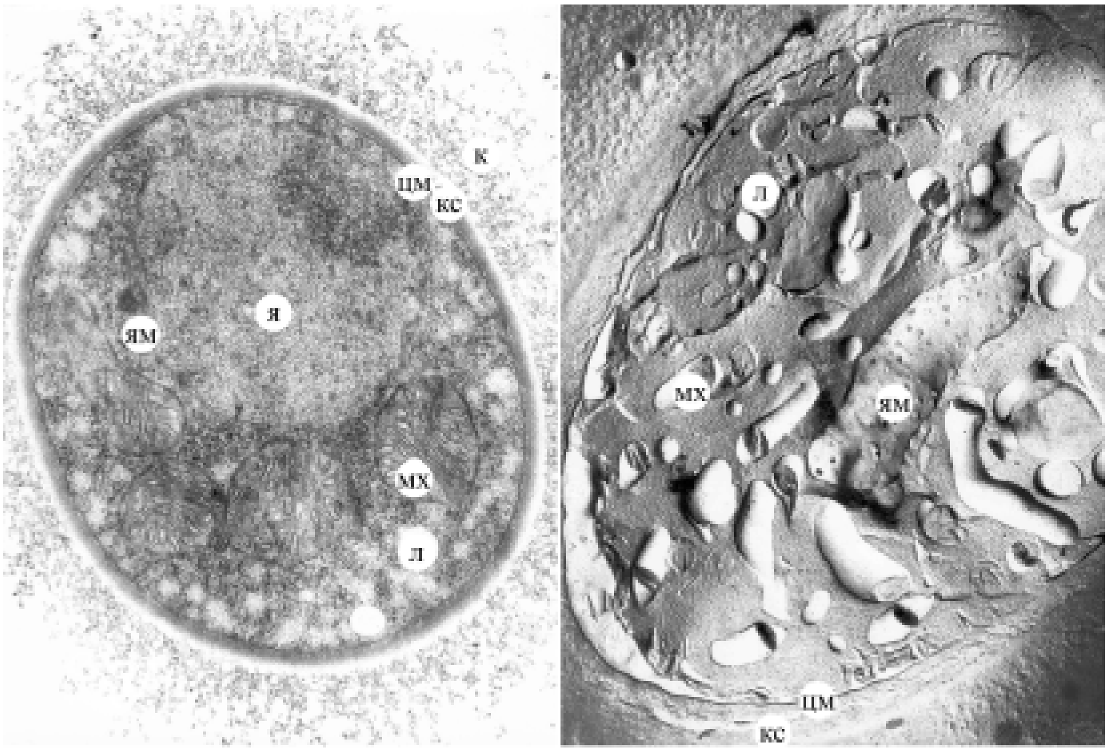


Рис. 2. Дрожжевая клетка под электронным микроскопом: цм – цитоплазматическая мембрана, кс – клеточная стенка, к – капсула, я – ядро, ям – ядерная мембрана, мх – митохондрии, л – включения липидов; снимки получены методом тонких срезов (слева) и замораживания-скола (справа).

мицетовых дрожжей. У других видов детали цитологического строения могут несколько отличаться.

Компоненты дрожжевой клетки

Ядро. В дрожжевой клетке в фазе между делениями всегда имеется только одно ядро. В световом микроскопе его можно увидеть после специальной окраски или с помощью фазово-контрастного устройства при высоких разрешениях. На электронно-микроскопических снимках ультратонких срезов дрожжевых клеток ядро выглядит как более или менее округлая органелла, окруженная двойной мембраной - нуклеолеммой. В ней есть поры в виде округлых сквозных отверстий, которые образуются в результате слияния двух ядерных мембран. Однако ядерные поры - не просто отверстия, они заполнены сложноорганизованными структурами, которые называют комплексом пор ядра. Считается, что основная функция ядерных пор - транспорт готовых рибосомных субъединиц в цитоплазму. Ядерная оболочка многофункциональна, но в основном играет роль барьера, отделяющего содержимое ядра и регулирующего транспорт макромолекул между ядром и цитоплазмой.

Содержимое ядра, так называемый ядерный матрикс, имеет сложную, но упорядоченную многокомпонентную структуру. Основные функциональные единицы ядра - молекулы ДНК, несущие основную генетическую информацию о клетке. ДНК составляет основную часть **хроматина** - основного компонента ядра. Хроматин может находится в диффузном состоянии при полной деконденсации хромосом в интерфазе, и в конденсированном, когда при делении ядра ДНК компактизируется и образует плотные **хромосомы**. Число хромосом в ядре разных видов дрожжей может быть различным, оно колеблется от 2 (*Candida utilis*) до 16 (*Saccharomyces cerevisiae*). На электронно-микроскопических снимках в ядерном матриксе выделяются и другие компоненты, такие как **ядрышко** в виде особой электронно-плотной зоны, различные гранулы. Однако они не являются особыми органеллами и являются продуктами активности отдельных локусов хромосом. Так, **ядрышко** - это область синтеза рибосомальной РНК.

Основная функция ядра - хранение и репликация большей части наследственного материала. В ядре осуществляется контроль синтеза

нуклеиновых кислот, происходит формирование новых мембран на нуклеолемме, контроль деления или почкования клетки. При половом процессе ядро после диплоидизации переходит к мейотическому делению и в половые споры включаются гаплоидные ядра. Вегетативные клетки разных видов дрожжей могут быть гаплоидными или диплоидными в зависимости от особенностей полового цикла развития.

При почковании дрожжевой клетки ядро обычно находится в области перешейка между материнской клеткой и почкой. При этом происходит его митотическое деление без нарушения целостности ядерной мембраны. В делении участвует так называемая центриолярная пластинка (бляшка), которая удваивается и выполняет функции центриолей, организуя внутриядерный аппарат веретена.

Митохондрии лучше всего видны на электронных микрографиях в клетках дрожжей, выращенных в аэробных условиях (рис. 3). Они представляют собой разной формы органеллы, окруженные двойной мембраной. Эти мембраны не идентичны. Внутренняя мембрана образует **кристы**, с которыми связаны ферменты окислительного фосфорилирования. В матриксе митохондрий находятся ферменты цикла трикарбоновых кислот. Основная функция митохондрий - синтез АТФ в процессе дыхания.

Рис. 3. Митохондрии в дрожжевой клетке.

В митохондриях имеется собственная митохондриальная ДНК (мДНК), а также весь аппарат белкового синтеза, включая матричную РНК и 70S рибосомы (в отличие от 80S рибосом в цитоплазме). мДНК у дрожжей составляет 5-20% от всей ДНК клетки и кодирует некоторые ферменты митохондриального матрикса, например, цитохром-с оксидазу, комплекс АТФ-азы, ферменты процессинга РНК,

а также субъединицы митохондриальных рибосом. Другие ферменты митохондриального матрикса импортируются в него из цитоплазмы и кодируются ядерной ДНК. Клетки, утерявшие вследствие мутаций часть или всю мДНК (так называемые petite-мутанты), образуют на плотных средах очень мелкие (petite) колонии, так как их рост происходит только за счет гликолиза, но не дыхания.

Число митохондрий в одной дрожжевой клетке варьирует в пределах 1-20 в разные периоды роста и в зависимости от условий. Как правило, 1-2 митохондрии в клетке более крупные, чем остальные и имеют разветвленную форму. Реконструкция ультратонких срезов клетки позволяет предположить, что в некоторых случаях (в подготовительный период почкования) клетка содержит всего одну вытянутую и сильно разветвленную митохондрию. Митохондрии способны к самовоспроизведению и никогда не образуются de novo.

Цитоплазматическая мембрана, или плазмолемма, окружающая дрожжевую клетку, играет роль барьера проницаемости и контролирует транспорт веществ в клетку и из нее. Кроме того, в состав мембраны входят ферменты, участвующие в биосинтезе клеточной стенки.

На поперечном срезе под электронным микроскопом мембрана у дрожжей выглядит как трехслойная структура. Она представляет собой два слоя фосфолипидов, в которые погружены белковые молекулы, то есть построена по общему для всех клеточных мембран принципу. Однако, имеются различия, касающиеся химического состава.

У *Saccharomyces cerevisiae* основными фосфолипидами мембран являются фосфатидилхолин (лецитин), фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин (рис. 4). На их долю приходится около 90% всех липидов мембраны. В состав мембраны дрожжей входят также липиды стероидной природы - эргостерол, зимостерол и др. (рис. 5). Белки представлены в основном ферментами, которые участвуют в трансмембранном переносе веществ, расщеплении полисахаридов и синтезе внеклеточных структур.

Функции цитоплазматической мембраны многообразны: регуляция биосинтеза клеточной стенки, транспорт в клетку специфических молекул органических веществ, ионов K^+ и Na^+ и др.

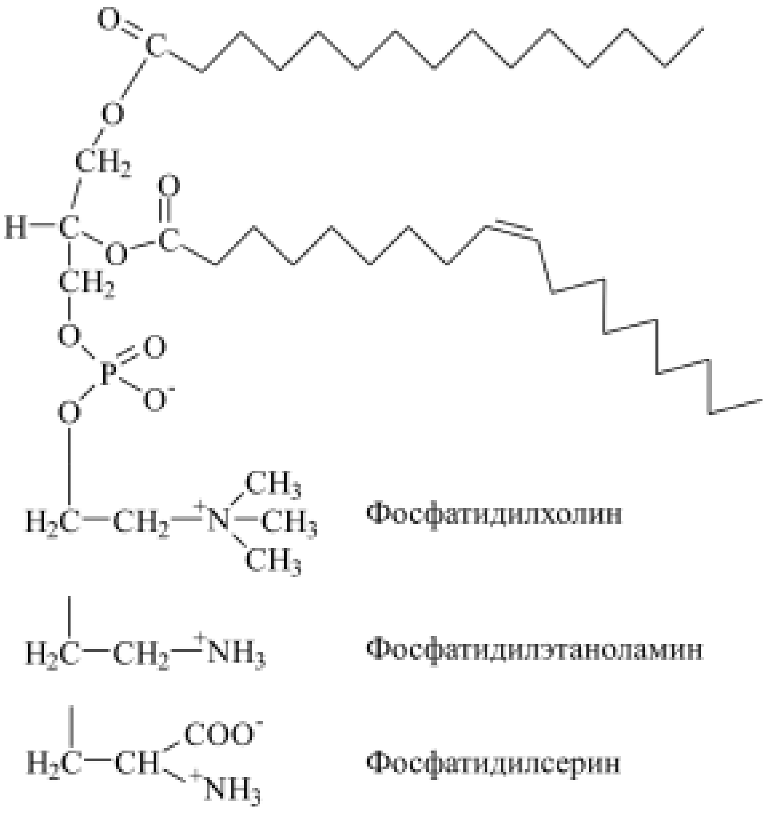


Рис. 4. Фосфолипиды клеточной мембраны дрожжей.

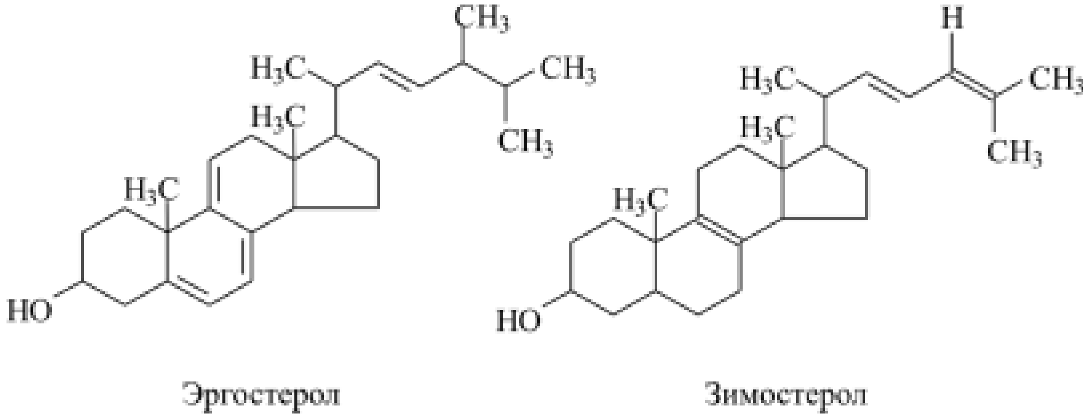


Рис. 5. Стеролы клеточной мембраны дрожжей.

Эндоплазматический ретикулум и комплекс Гольджи. Система внутриклеточных мембран, разделяющих внутреннее пространство клетки на отсеки, носит название эндоплазматического ретикулума (ЭПР). Часть этих мембран имеет гладкую поверхность (гладкий ЭПР), другие покрыты рибосомами (шероховатый ЭПР). ЭПР принимает участие в синтезе макромолекул (гликогена, белков) и во многих других клеточ-

ных процессах. Из мембран ЭПР образуются пузырьки - везикулы, которые содержат ферменты, доставляемые в разные отделы клетки, например, к месту роста почки. Через ЭПР осуществляется связь между плазмолеммой и мембранами митохондрий.

В мембранной системе дрожжевой клетки можно выявить параллельно расположенные стопки (диски) мембран - **диктиосомы** - с функцией аппарата Гольджи. По периферии диски расширяются в виде валика и окружены пузырьками или звездчатыми фагосомами. Они выполняют экскреторные и секреторные функции, участвуют в образовании новых мембран и формировании стенок растущих клеток. Аппарат Гольджи - источник формирования особых везикулярных структур - **лизосом**. Это мембранные пузырьки - очень мелкие вакуоли с гидролитическими ферментами, которые участвуют в освобождении клетки от чужеродных и собственных необратимо поврежденных субклеточных компонентов. При их разрушении освобождающиеся ферменты могут привести к полному лизису всей клетки, за что они и получили образное название - «мешки самоубийцы».

Вакуоли. В фазово-контрастном микроскопе в клетках дрожжей хорошо видны светлые и прозрачные структуры круглой формы. Это вакуоли. Обычно их 1-3 в клетке. Каждая вакуоль окружена одинарной мембраной и содержит различные ферменты, липиды, низкомолекулярные продукты метаболизма (аминокислоты), ионы металлов. В вакуолях сосредоточена большая часть ионов калия. Иногда в вакуоли видны «пляшущие» за счет броуновского движения плотные гранулы. Это так называемые метахроматические гранулы, «пляшущие тельца» (dancing bodies), или волютин. Гранулы эти состоят из полимеризованных остатков фосфатов, а по периферии они покрыты комплексными соединениями из РНК, белков и липидов. Волютин - это резерв полифосфатов в клетке.

Основная функция вакуолей - разобщение процессов синтеза и распада белков и нуклеиновых кислот. Они выполняют также роль депо для хранения некоторых запасных веществ и ферментов, участвуют в регуляции тургорного давления. Известны четыре пути транспорта внутрь вакуоли: пиноцитоз, транспорт в процессе рибосомного синтеза, пассивный и активный транспорт.

Клеточная стенка. Дрожжевые клетки окружены ригидной структурой - клеточной стенкой, которая защищает протопласт от осмотического разрыва и придает клетке определенную форму. Она составляет от 10 до 30% сухой биомассы дрожжей. При длительном замедленном росте ее доля увеличивается, при быстром - уменьшается. Клеточная стенка дрожжей состоит в основном из полисахаридов с небольшим включением других веществ - белков, липидов. В гидролизатах клеточных стенок аскомицетовых дрожжей доминируют три моносахарида: D-глюкоза, D-манноза и N-ацетил-D-глюкозамин, из которых и построены основные полимеры клеточной стенки - β-глюкан, α-маннан и хитин. В гидролизатах разных дрожжей встречаются и другие моносахариды: D-галактоза и D-глюкозамин у аскомицетовых дрожжей, L-фукоза и L-ксилоза - у базидиомицетовых. Хитин аккумулируется в основном в почечных рубцах.

Детальная картина организации клеточной стенки всего разнообразия дрожжей еще не совсем ясна. Наиболее полно изучено строение клеточной стенки у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Основной структурный компонент клеточной стенки, ответственный за ее ригидность - полисахарид β-глюкан. Он образует микрофибриллярную сеть непосредственно вокруг цитоплазматической мембраны. Структурные маннопротеиды в комплексе с белками образуют аморфный внешний слой. Эти два слоя разделены промежуточным слоем с повышенным содержанием белков. Маннановые цепи обычно прикреплены к остаткам аспарагина или серина в белке. Маннан может использоваться клеткой в качестве резервного источника углерода, поэтому его содержание значительно колеблется в зависимости от условий роста.

На срезах клеток в электронном микроскопе клеточная стенка аскомицетовых дрожжей имеет внутренний светлый слой и внешний, более тонкий темный электронно-плотный слой, соответствующие глюкановому и маннановому каркасам. У базидиомицетовых дрожжей, клеточная стенка состоит главным образом из разного типа глюканов, и на срезе видна тонколамеллярная структура без чередования темных и светлых слоев (рис. 6). Этот признак имеет таксономическое значение при определении аффинитета у несовершенных дрожжей.

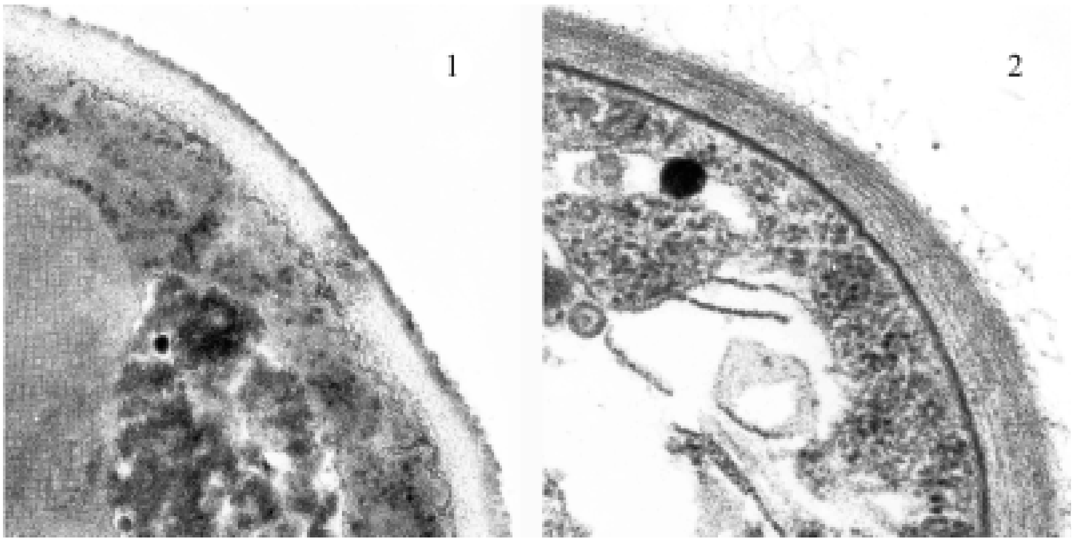


Рис. 6. Клеточная стенка различных дрожжей под электронном микроскопом: 1 – аскомицетовые, 2 – базидиомицетовые.

Глюкан клеточной стенки аскомицетовых дрожжей растворяется под действием клеточного сока виноградной улитки. Гепатопанкреатический секрет улитки содержит более 30 различных ферментов и давно используется в исследованиях для разрушения клеточных стенок дрожжей и получения протопластов. У базидиомицетовых дрожжей протопластов при такой обработке не образуется.

Капсула. Клетки многих видов дрожжей образуют капсулу - слизистый полисахаридный чехол вокруг клетки. Капсула прозрачна и увидеть ее в световой микроскоп можно только после окраски препарата методом негативного контрастирования. Для этого препараты из культур дрожжей готовят в растворе туши или другой мелкодисперсной взвеси. Мелкие частицы не проникают в плотную капсулу и они видны в виде светлых ореолов вокруг клеток на темном фоне. При подготовке препаратов к электронной микроскопии капсулы высыхают и превращаются в отдельные тяжи (рис. 7). Способность к образованию капсул особенно характерна для тех дрожжей, которые обитают на твердых поверхностях - на листьях растений, в почве. Этот слой может быть очень тонким (микрокапсула), но иногда его толщина превышает диаметр клетки в 2-3 раза. Размеры капсулы зависят от вида дрожжей и условий среды обитания.

Состав внеклеточных капсульных полисахаридов варьирует в зависимости от вида дрожжей. Соединения, образующие капсулу, могут относиться к следующим группам.

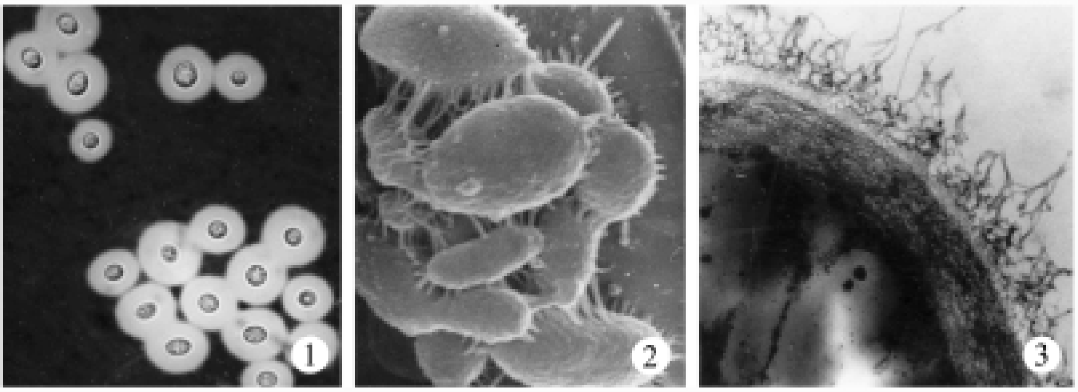


Рис. 7. Капсулы дрожжей при различных способах микроскопирования: 1 – световой микроскоп, негативное контрастирование тушью, 2 – сканирующий электронный микроскоп, 3 – просвечивающий электронный микроскоп.

1. Фосфоманнаны - синтезируются некоторыми аскомицетовыми дрожжами рода *Pichia* и образуют тонкий слой на поверхности клеточной стенки. Эти соединения представляют собой олигосахаридные цепочки α (1→3) маннозы, соединенные между собой фосфоэфирными связями.

2. α-Глюканы, к числу которых относится пуллулан, образуемый дрожжеподобным грибом *Aureobasidium pullulans*. Он представляет собой полимер, в котором мальтотриозные блоки связаны между собой α (1→6) гликозидной связью.

3. β-Маннаны - образуются пигментированными дрожжами из родов *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*. Они представляют собой линейные полимеры маннозы с чередующимися β (1→3) и β (1→4) связями.

4. Гетерополисахариды - характерны для многих несовершенных дрожжей базидиомицетового аффинитета из рода *Cryptococcus*, а также аскоспоровых дрожжей *Lipomyces*. Гетерополисахариды криптококков и липомицетов очень разнообразны по составу и строению. Обычно они имеют разветвленную структуру и могут состоять из остатков глюкуроновой кислоты, галактозы, глюкозы, маннозы, ксилозы, фукозы. У некоторых видов в основную цепь капсульных полисахаридов входят уроновые кислоты.

Функции капсулы многообразны. Капсулы способствуют прикреплению клеток к поверхности твердого субстрата, создают особую межклеточную среду, способствуют улучшению водного снабжения клетки.

Капсула может также участвовать в питании клетки. С одной стороны, клетка может использовать свои капсульные полисахариды в качестве резервного источника питания, с другой - полисахаридная слизь капсулы может адсорбировать питательные вещества, которые потребляются клеткой. В природных средах капсулы могут служить местами аккумуляции бактерий - спутников и ассоциантов дрожжей.

Цитоплазма. Основное вещество цитоплазмы составляет так называемый матрикс, в котором расположены все органеллы клетки. Матрикс содержит большое количество рибосом, полифосфатов, запасные углеводы - гликоген и трегалозу, многие ферменты и циклическую ДНК. Рибосомальная РНК составляет более 85% от общей суммы рибонуклеиновых кислот, содержание которых в 50-100 раз превышает концентрацию ДНК и достигает 12% от сухой массы дрожжевых клеток.

В цитоплазматическом матриксе, примыкающем к плазмолемме, обнаруживаются сильно полимеризованные полифосфаты в виде гранул **волютина**. Это резерв энергетического материала, используемого в различных процессах метаболизма.

Гликоген - основной запасной полисахарид дрожжевой клетки - на ультратонких срезах имеет вид мелких сферических гранул диаметром около 40 нм. Он представляет собой сильноразветвленный полимер α-глюкозы, в котором глюкозные остатки основной цепи связаны α $(1\rightarrow4)$, а остатки ветвей - α $(1\rightarrow6)$ связями. При обработке клеток раствором Люголя места скопления гликогена окрашиваются в темно-бурый цвет. На ультратонких срезах гликоген выявляется в виде мелких гранул диаметром около 40 нм.

Другой запасной углевод клетки - **трегалоза** - заключен в мелкие везикулы (трегалозосомы), окруженные мембраной, что защищает его от ферментативного гидролиза трегалазой, находящейся в цитоплазме. Кроме трегалазы в цитоплазме обнаруживаются многие другие ферменты: мальтаза, целлобиаза, лактаза (у тех дрожжей, которые ассимилируют эти углеводы), алкогольдегидрогеназа, все ферменты гликолитического пути и пентозофосфатного цикла.

Липиды. В цитоплазме могут накапливаться свободные жирные кислоты в виде липидных скоплений. В соединении с фосфатами и белками они образуют фосфолипидные или фосфолипопротеидные гранулы, ко-

торые на срезах представляют собой либо гомогенные структуры, либо комплексы концентрически расположенных мембран. Липиды в дрожжевых клетках хорошо различимы в световом микроскопе и видны, как резко преломляющие свет, блестящие круглые тельца - «жировые капли». Таких капель в клетках может быть несколько, или же они сливаются в одну крупную глобулу, которая у некоторых видов, например *Cryptococcus terricola*, *Lipomyces starkeyi*, может занимать большую часть клетки (рис. 8).

Изменения клеточных структур в онтогенезе

Цитологические особенности дрожжевой клетки могут существенно изменяться в зависимости от ее возраста и стадии онтогенеза. Новая молодая дрожжевая клетка развивается либо из споры при ее прорастании, либо образуется вегетативно при почковании материнской клетки. В споре сохраняются основные клеточные структуры: ядро, митохондрии, цитоплазматическая мембрана и элементы ЭПР. Уже через 1-2 часа после набухания и прорастания споры в клетке видны сильно удлиненные митохондрии. Это начало их подготовки к делению. Через 3-4 часа на вогнутой поверхности ядра происходит активация наружного листка ядерной мембраны и в этом месте формируются новые мембраны, часть из которых входит в комплекс Гольджи, а другие, возможно, включаются в систему ЭПР. Затем начинается деление митохондрий и развитие вакуолярного аппарата на основе мембран ЭПР.

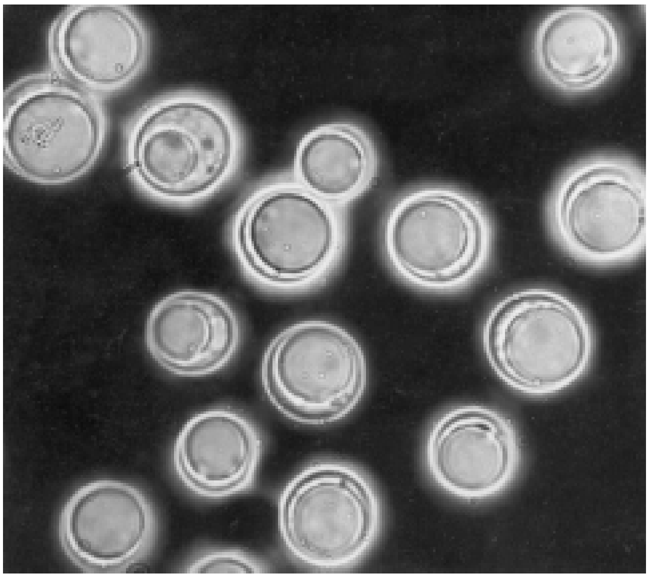


Рис. 8. Липиды в клетках Lipomyces starkeyi.

При почковании происходит активация цитоплазматической мембраны и транспортных везикул, переход в почку митохондрий и части мембран ЭПР. Эндомитоз ядра начинается в материнской клетке уже после образо-

вания почки. Ядро вытягивается без нарушения целостности ядерной мембраны, передвигается к почке и через узкий перешеек перемещается частично в почку. В ядре молодой клетки поры расширены, что свидетельствует о напряженности обменных процессов. Митохондрии в новой клетке образуются путем деления, а другие мембраны развиваются на основе «затравочных» компонентов путем удлинения или матричного механизма. В более зрелых клетках мембраны эндоплазматической сети образуют отдельные цистерны, которые превращаются в разного рода вакуоли и везикулы.

Клеточная стенка по мере старения клетки становится толще, у аскомицетовых дрожжей в ней насчитывается более 4 слоев. Увеличивается содержание хитина, который локализуется в области шрамов почкования. Многочисленные шрамы почкования сильно меняют структуру клеточной поверхности.

Капсула у молодых клеток иногда сразу хорошо выражена, если формирование почек происходит в среде, богатой углеводами. Она представляет собой как бы продолжение того слизистого покрова, который окружает материнскую клетку, но обычно на молодой клетке этот слой тоньше. Затем толщина капсулы растет, но часть поверхностного материала постоянно переходит в среду, образуя фракцию так называемых внеклеточных полисахаридов.

Доля запасных веществ - липидов, гликогена - возрастает по мере роста клетки, а при старении вновь падает за счет их частичного потребления клеткой на энергетические нужды.

Цитологические особенности дрожжей в различных условиях роста

Значительные изменения в структурной организации клетки происходят при смене условий роста: при переходе от анаэробного к аэробному культивированию, замене состава среды и концентрации лимитирующих субстратов, при недостатке факторов роста, а также при стрессовых физиологических воздействиях. Особенно заметны ультраструктурные перестройки мембранного аппарата при аэробно-анаэробных сдвигах. В условиях анаэробного брожения митохондрии неузнаваемо меняют свой облик: они объединяются, кристы распрямляются. И наоборот,

при аэрации митохондрии активно делятся, число их возрастает, в них хорошо заметны кристы. В анаэробных условиях в клетках накапливается больше гликогена и он представлен крупными гранулами, а иногда образует конгломераты.

При росте дрожжей на углеводородах в их клеточных стенках появляются особые зоны (каналы), через которые нерастворимые в воде углеводороды проникают в клетку (рис. 9). Участки клеточной поверхности разрыхляются и приобретают форму купола. Высшие жирные кислоты и н-алканы, проходя через клеточную стенку, накапливаются в периплазматическом пространстве и далее поступают в клетку путем пиноцитоза и «просачивания» через цитоплазматическую мембрану в каналы ЭПР.

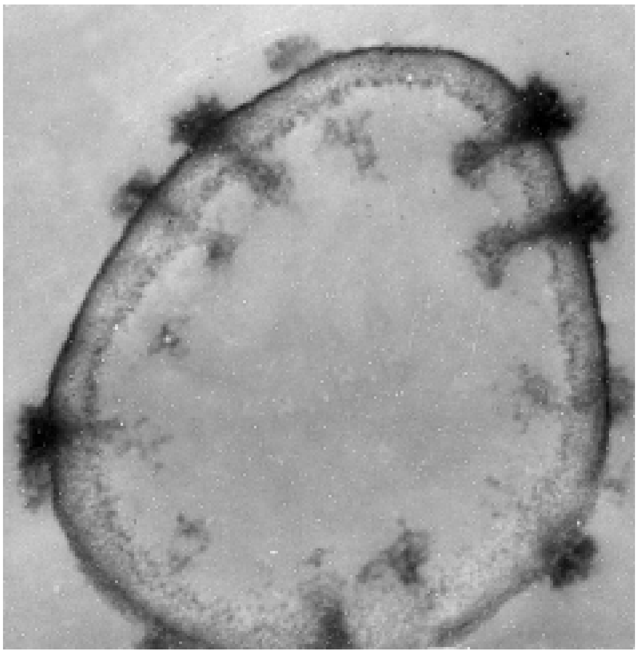


Рис. 9. Ультратонкий срез дрожжевой клетки, растущей на н-алканах, видны каналы в клеточной стенке, через которые нерастворимые в воде углеводороды проникают в клетку.

Метилотрофные дрожжи, растущие на метаноле, образуют крупные пероксисомы - вакуоли, заполненные ферментными белками с упорядоченной кристаллической структурой (рис. 10). Они резко преломляют свет и хорошо видны при фазово-контрастном микроскопировании в виде блестящих кристаллов внутри клетки.

У капсулообразующих дрожжей при обильном снабжении углеводами под цитоплазматической мембраной выявляются многослойные мембранные образования - **плазмолеммосомы**, функция которых связана с синтезом капсульного материала.

При стрессовых физических и химических воздействиях на клетки в них возникают патологические обратимые и необратимые изменения, касающиеся главным образом мембранных структур. Повреждение ионизирующей радиацией, например, вызывает задержку лаг-фазы, в тече-

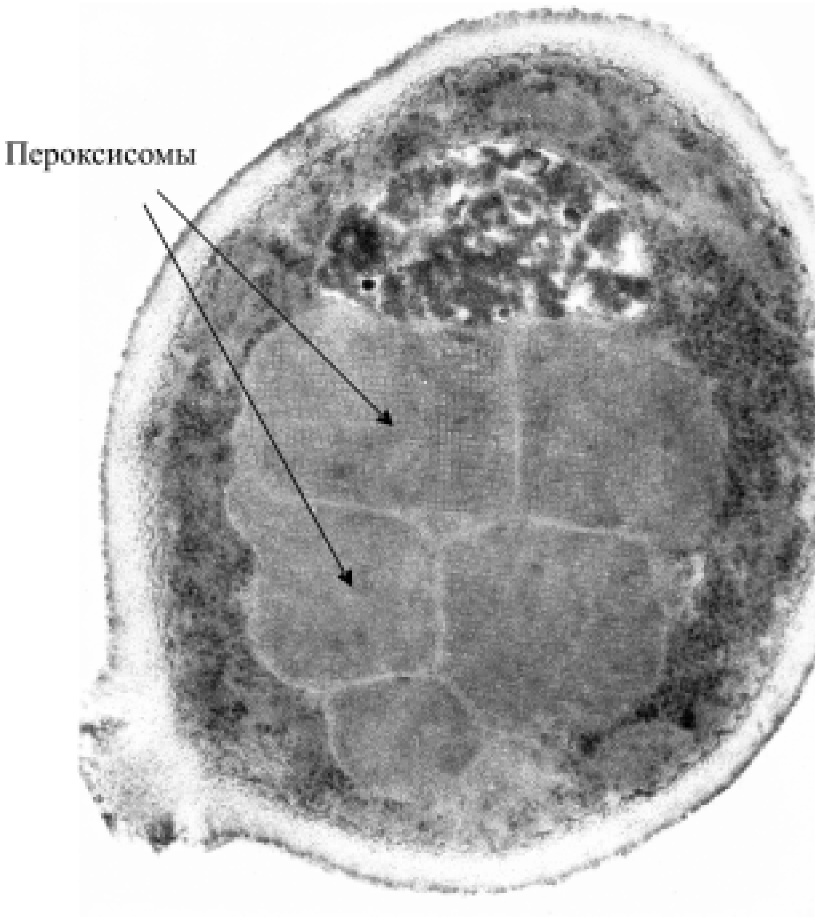


Рис. 10. Пероксисомы в дрожжевой клетке.

ние которой деление митохондрий нарушено. В результате образуются либо гигантские, либо очень мелкие митохондрии с поврежденными кристами. Аппарат Гольджи при этом активизируется и, как результат, появляются многочисленные фагосомы, дискретные вакуоли и гранулы. Позже наблюдается появление гигантских клеток, в которых гипертрофированы системы мембран Гольджи и ЭПР. Возникают многослойные концентрические зоны, клетка заполняется плотной сетью мембран. Ядро при облучении приобретает неправильную форму, в нем синтезируются внутриядерные мембраны и образуется так называемое «мозаичное» ядро, неспособное к делению.

При действии на дрожжи некоторых антибиотиков также происходят структурные изменения ядер. Стрептомицин вызывает их множественное деление, что приводит к появлению многоядерных клеток. Хлорамфеникол, наоборот, тормозит деление ядер и образуются гигантские

клетки с очень крупными ядрами. Циклогексимид, вызывая деструкцию нуклеиновых кислот, снижает электронную плотность нуклеоплазмы. При действии нистатина на *Candida albicans* в клетках изменяется плазмолемма: на ней образуются глубокие трубковидные инвагинации.

Существенные структурные перестройки происходят в клетке при ее обезвоживании. В ядрах наблюдается конденсация хроматина на одном из полюсов и отчетливо выявляются хромосомы, обычно заметные лишь в профазе-анафазе митоза. Гомогенные участки ядра отделяются путем врастания нуклеолеммы. Поры в этой области ядра расширяются и происходит постепенная ресорбция этого участка. Хромосомы остаются в сохраняющейся части ядра. Жизнеспособность при этом не теряется и высушенные клетки легко реактивируются. Выход из анабиотического состояния начинается с восстановления и реактивации митохондрий.

МОРФОЛОГИЯ И БЕСПОЛОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ

При характеристике морфологии дрожжевых грибов обычно различают макро- и микроморфологические признаки, поскольку первые изучают визуально, а вторые - с помощью микроскопа. **Макроморфология** включает культуральные признаки, характеризующие рост культуры в жидких или на плотных средах. Макроморфологические признаки очень изменчивы и сильно зависят от состава среды и условий культивирования, поэтому они имеют весьма ограниченное значение в систематике дрожжей. Тем не менее, многие виды дрожжей существенно отличаются по характеру роста на скошенном агаре (рис. 11) или в виде гигантской колонии (рис. 12), что на практике дает возможность их быстрой предварительной идентификации.

Рис. 11. Рост различных видов дрожжей на скошенном агаре.

Дрожжевые культуры, растущие на плотных средах, по консистенции бывают чаще всего пастообразными, а также слизистыми, иногда полностью стекающими на дно пробирки, вязкими, клейкими, кожистыми или крошащимися. Слизистый рост характерен для многих анаморфных базидиомицетовых дрожжей родов *Cryptococcus*, *Rhodotorula*,

Рис. 12. Гигантские колонии дрожжей разных видов на сусло-агаре.

Sporobolomyces, образующих большое количество внеклеточных полисахаридов, а также для аскомицетовых почвенных дрожжей рода *Lipomyces*. У большинства аскомицетовых дрожжей колонии пастообразные, сухие, культура при росте на скошенном агаре не стекает на дно пробирки. Для дрожжеподобных грибов,образующих как одиночные клетки, так и мицелий, характерны колонии с ворсинчатым краем, который хорошо просматривается при просвечивании.

У большинства дрожжей колонии белые, часто приобретающие при старении кремовый или слегка коричневатый оттенок. У некоторых аскоспоровых дрожжей, например из родов *Nadsonia* или *Lipomyces*, старые колонии при обильном спорообразовании темнеют и становятся бу-

рыми или шоколадными. Многие дрожжи образуют пигменты, окрашивающие их колонии в различные цвета. Наличие каротиноидных пигментов, придающих колониям красную, розовую, оранжевую или желтую окраску, характерно для базидиомицетовых дрожжей родов *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Cystofilobasidium* и др. Аскомицетовые дрожжи *Metschnikowia pulcherrima* образуют диффундирующий в среду красно-вишневый пигмент пульхерримин. Так называемые «черные дрожжи», формируют темно бурые или черные колонии за счет накопления меланиноподобных пигментов.

При росте в жидких средах дрожжи вызывают помутнение, образуют осадок, кольцо на стенках пробирки, разного характера пленки. Как правило, рост в виде пленки характеризует способность дрожжей объединяться в мицелиальные структуры или свидетельствует об окислительном типе энергетического метаболизма.

Микроморфология дрожжей

Микроморфология дрожжей включает признаки, характеризующие отдельные клетки (форма, размеры), а также способы вегетативного и бесполого размножения и образуемые при этом структуры.

Типы вегетативного размножения. Морфогенез дрожжевой клетки тесно связан со способом вегетативного размножения (рис. 13). Различают два принципиально различных способа образования вегетативных клеток у дрожжей - **артрический** (талломный) и **бластический** (зародышевый). При артрическом способе мицелий дрожжеподобных грибов одновременно распадается на отдельные одноклеточные элементы - **артроспоры** (рис. 14). Они образуются за счет расчленения гифы по поперечным септам после разрушения первичной стенки гифы в местах сочленения. Такой способ вегетативного размножения характерен для дрожжеподобных грибов *Endomyces*, *Galactomyces*, *Arxula*, *Trichosporon*, причем у двух последних родов образование артроспор сопряжено с их последующим почкованием.

Бластический тип вегетативного размножения - это образование почек, что наиболее характерно для дрожжей. Почка представляет собой вырост на материнской клетке, который по мере увеличения в размерах

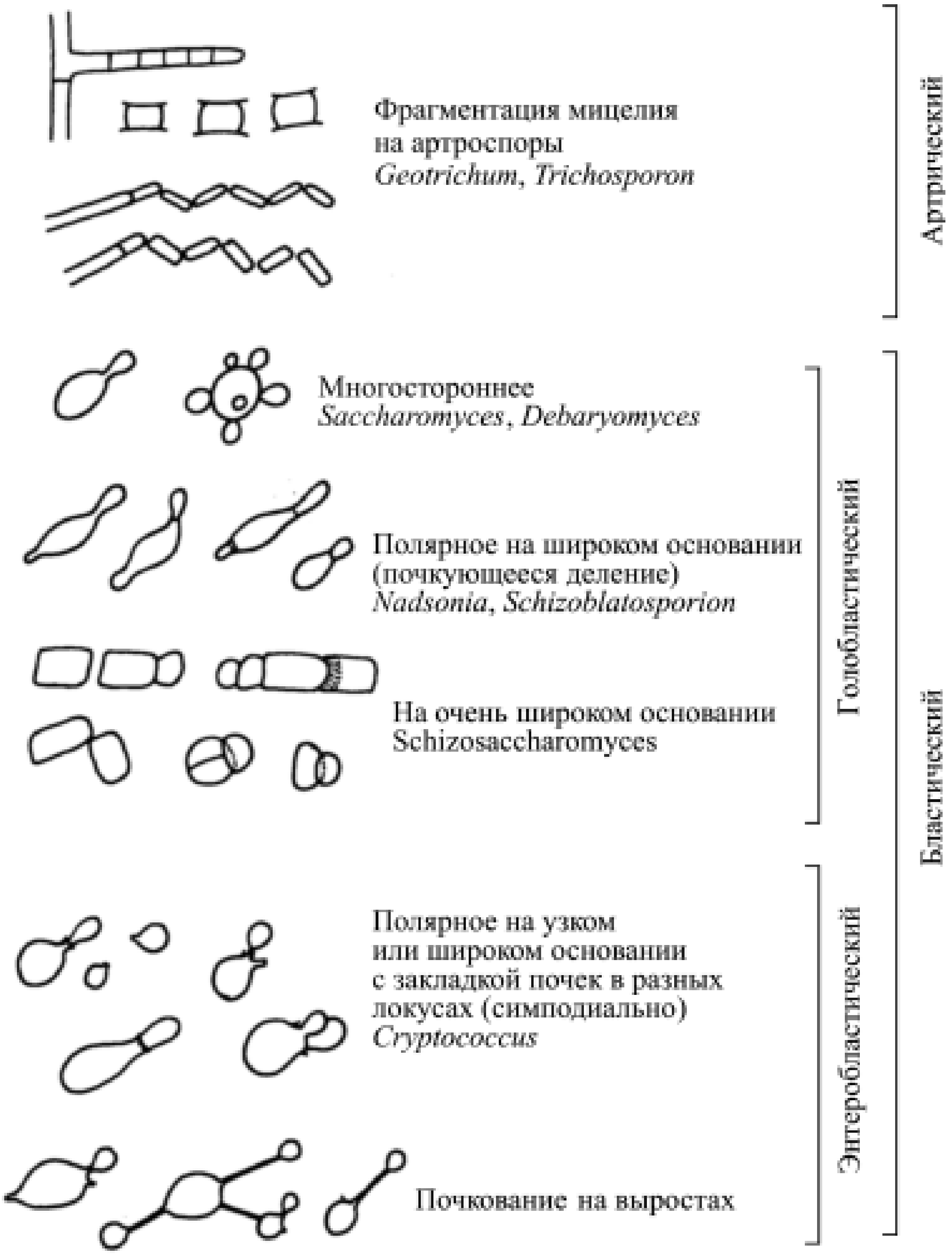


Рис. 13. Типы вегетативного размножения у дрожжей.

отшнуровывается от нее. На материнской клетке при этом остается шрам почкования, а на отделившейся почке - шрам рождения. Шрамы почкования (рис. 15), или почечные рубцы, сохраняются на материнской клетке весь период ее жизни, а шрамы рождения со временем становятся малозаметными.

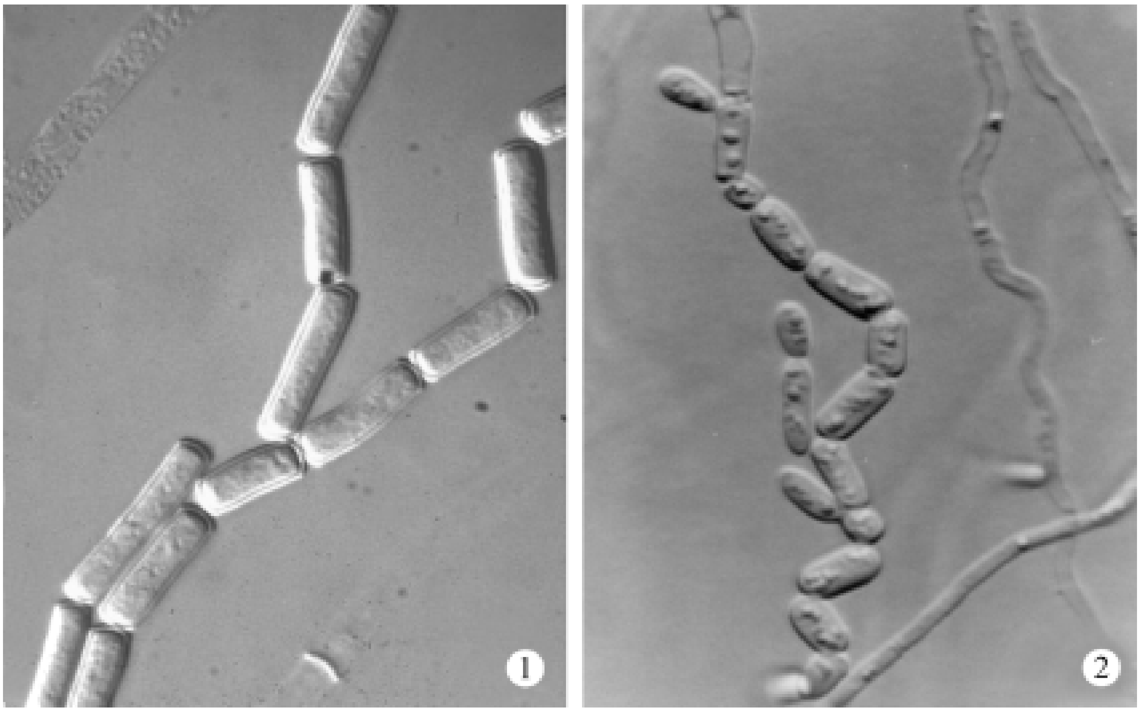


Рис. 14. Мицелий, распадающийся на артроспоры: 1 – Geotrichum candidum, 2 – Trichosporon asahii.

По ультраструктурному механизму образования почек различают **голобластическое** и **энтеробластическое** почкование (рис. 16). Первый тип характерен для аскомицетовых, второй - для базидиомицетовых дрожжей, то есть признак этот имеет высокую таксономическую ценность. При голобластическом почковании в образовании почки участвует вся клеточная стенка материнской клетки, и почка при этом как бы «выдувается» из нее. В какой-то степени такой

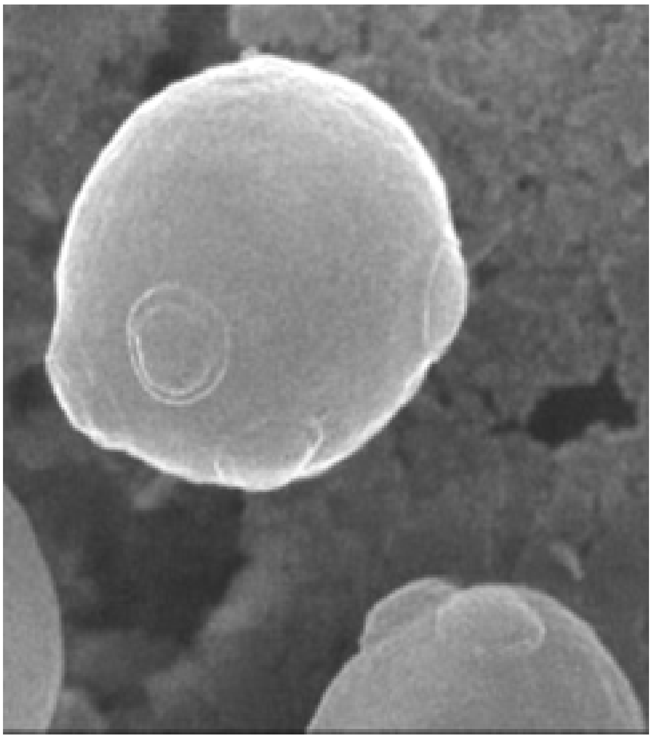


Рис. 15. Шрамы почкования на дрожжевой клетке.

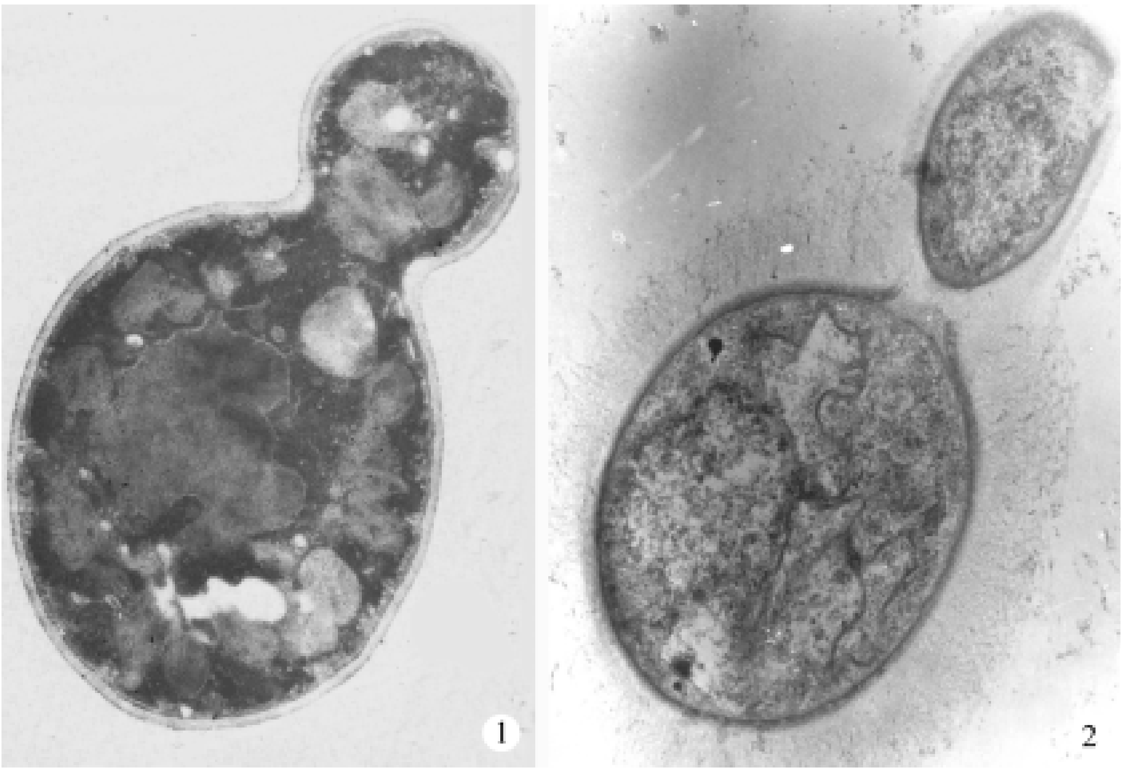


Рис. 16. Ультраструктурные особенности почкования: 1 – голобластическое почкование у аскомицетовых дрожжей, 2 – энтеробластическое почкование у базидиомицетовых дрожжей.

рост на начальных этапах образования почки можно сравнить с апикальным вегетативным ростом грибной гифы. При энтеробластическом почковании почка вырастает (как бы «выдвигается») из материнской, разрывая ее. Клеточная стенка почки синтезируется заново, и весь процесс напоминает прорастание споры, то есть он имеет сходство с репродуктивной фазой мицелиальных грибов, например с образованием конидий по типу фиалид.

В зависимости от места образования почек и способа их отделения от материнской клетки различают несколько типов почкования. Этот признак хорошо выявляется при обычной световой микроскопии и служит для дифференциации дрожжей на различных таксономических уровнях. По месту заложения почек различают полярное (биполярное) и многостороннее почкование. Многостороннее почкование наиболее распространено среди дрожжей (рис. 17). Оно типично для родов *Saccharomyces*, *Pichia*, *Debaryomyces*, *Candida* и многих других. У большинства аскомицетовых

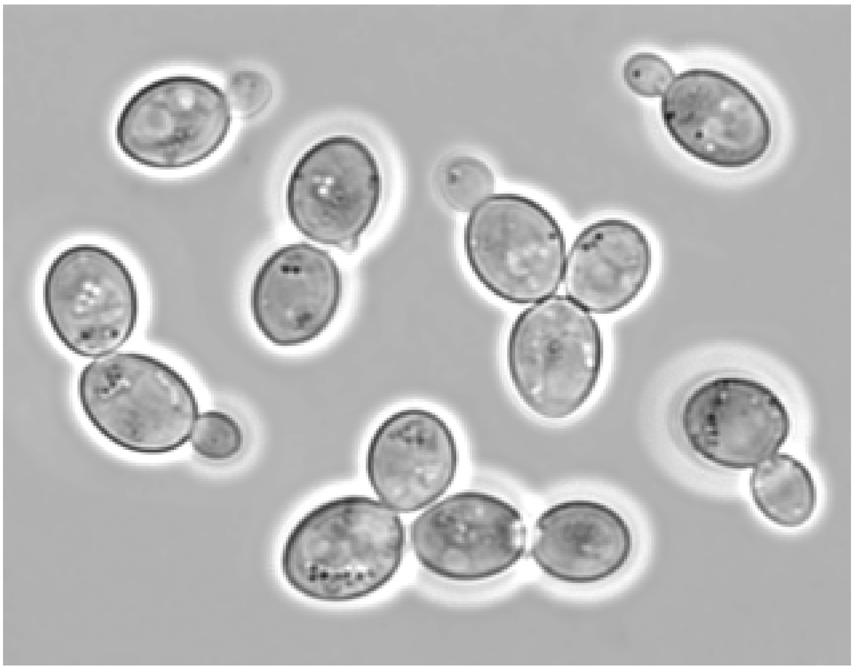


Рис. 17. Многостороннее почкование у Saccharomyces cerevisiae.

дрожжей с многосторонним почкованием почки возникают на любом месте клеточной поверхности последовательно одна за другой, однако у некоторых видов закладывается одновременно по несколько почек. В этом случае говорят о множественном почковании (рис. 18). Каждая новая почка после отделения оставляет на материнской клетке новый шрам почкования, по числу которых можно судить о возрасте клетки. Иногда на старых клетках таких шрамов почкования насчитывают более двух десятков. У сахаромицетов шрамы почкования на гаплоидных клетках мелкие и расположены близко один к другому, а на диплоидных клетках они более крупные и располагаются равномерно по всей клетке.

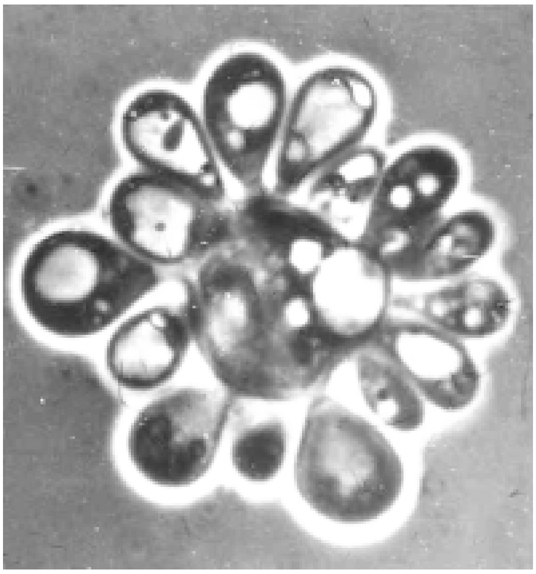


Рис. 18. Множественное почкование у Lipiomyces starkeyi.

При полярном почковании закладка почек происходит строго только по полюсам клетки и каждая последующая почка возникает точ-

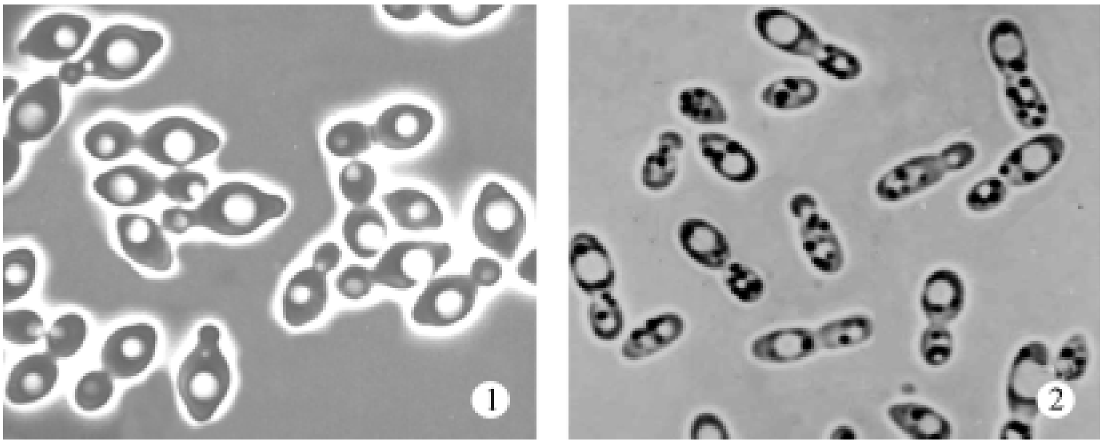


Рис. 19. Клетки дрожжей с голобластическим полярным почкованием на широком основании: 1 – Hanseniaspora, 2 – Schizoblastosporion.

но на месте предыдущей. При этом шрамы почкования нарастают один на другой и придают клетке характерную форму (рис. 19): грушевидную (у рода *Schizoblastosporion*) или лимоновидную, апикулятную (у родов *Saccharomycodes*, *Hanseniaspora*, *Nadsonia*). Так как в этих случаях перешеек между материнской клеткой и почкой бывает очень широкий, с ясно видимой в световом микроскопе септой, то такой тип почкования называют почкующимся делением (bud-fission).

Почкование на широком основании часто встречается и у базидиомицетовых дрожжей, но места образования новых почек у них обычно строго не фиксированы. Иногда из одного локуса может вырастать сразу по несколько почек, или же почки возникают последовательно одна рядом с другой (симподиальное почкование у *Cryptococcus neoformans*). Энтеробластическое почкование в этих случаях приводит к образованию хорошо заметных в световом микроскопе шрамов на клетке после отделения почек. Для родов *Sterigmatomyces*, *Kurtzmanomyces*, *Fellomyces* характерно формирование почек-конидий на длинных выростах, или стеригмах (рис. 20).

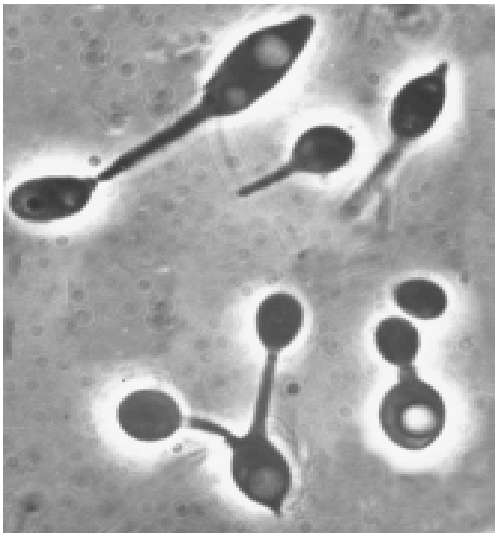


Рис. 20. Почкование на стеригмах у Fellomyces penicillatus.

Таким образом, дрожжевые клетки значительно различаются по форме у разных родов и видов и этот признак тесно связан со способом вегетативного размножения (рис. 21). У видов, размножающихся многосторонним почкованием, клетки имеют сферическую, округлую, овальную или яйцевидную форму. При биполярном почковании клетки приобретают апикулятную (лимоновидную) или грушевидную форму. У деля-

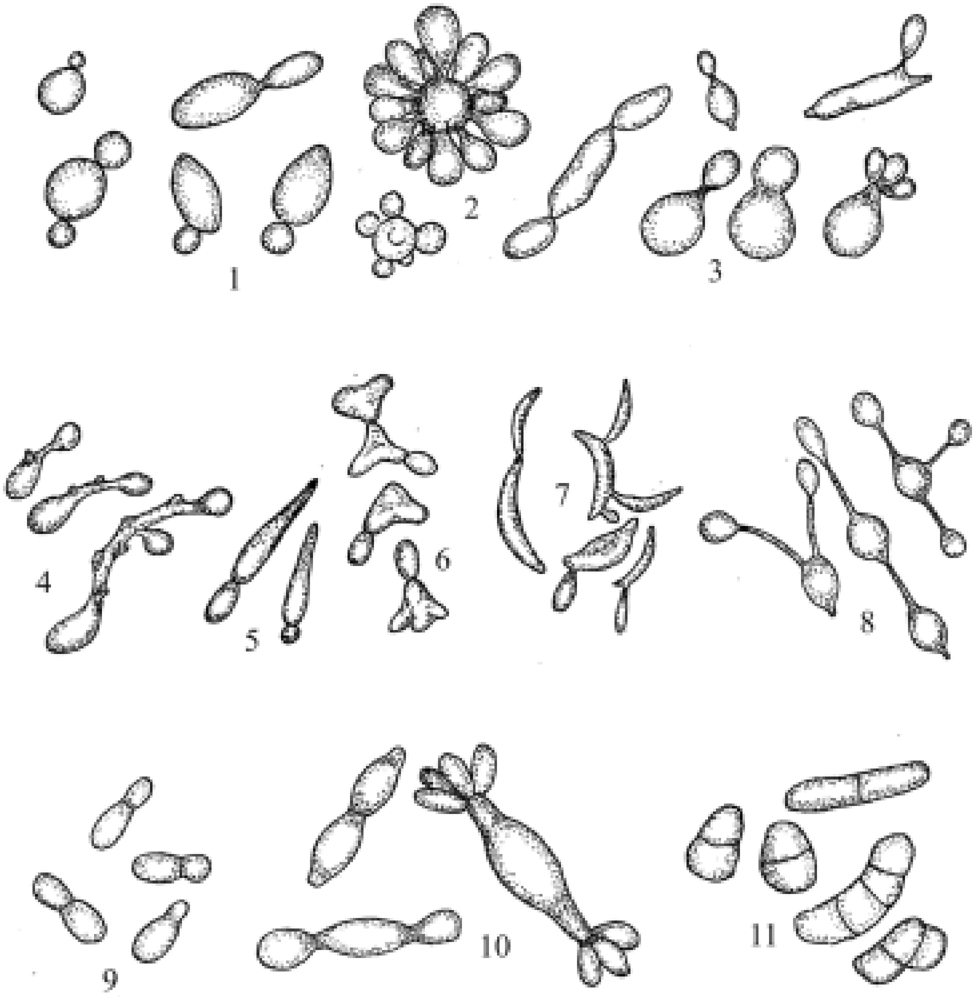


Рис. 21. Различные типы клеток у дрожжей: 1 – овальные клетки с многосторонним почкованием у Saccharomyces cerevisiae, 2 – круглые клетки с множественным почкованием у Debaryomyces hansenii и Lipomyces starkeyi, 3 – энтеробластическое почкование на узком и широком основании у Cryptococcus, 4 – симподиальные почки у Sympodiomyces 5 – стреловидные клетки у Brettanomyces, 6 – треугольные клетки у Trigonopsis variabilis, 7 – серповидные клетки у Metschnikowia lunata, 8 – почкование на стеригмах у Fellomyces, 9 – ламповидные клетки у Schizoblastosporion starkeyi-henricii, 10 – лимоновидные (апикулятные) клетки у Nadsonia, 11 – почкование на очень широком основании у Schizosaccharomyces.

щихся дрожжей клетки более или менее цилиндрические. Специфическую угловатую форму имеют клетки дрожжей рода *Trigonopsis*, серповидную - *Metschnikowia lunata*. Клетки дрожжей, образующие почки на стеригмах, зачастую приобретают форму, делающую их похожими на простекобактерии.

Псевдомицелий. У многих видов дрожжей в определенных условиях роста материнские и дочерние клетки после почкования не разъединяются, а продолжают почковаться. В результате возникают структуры, имитирующие мицелий. Такой мицелий называют ложным, или псевдомицелием (рис. 22). В отличие от истинного (септированного) мицелия, в нитях псевдомицелия между клетками обычно хорошо заметны перетяжки, а апикальные (концевые) клетки всегда короче предшествующих. Псевдомицелий, состоящий только из клеток одного типа, сходных по форме и размерам, называют примитивным (рудиментарным). Сложный псевдомицелий состоит из клеток более чем одного типа, обычно в нем резко различаются длинные клетки, составляющие псевдоги-

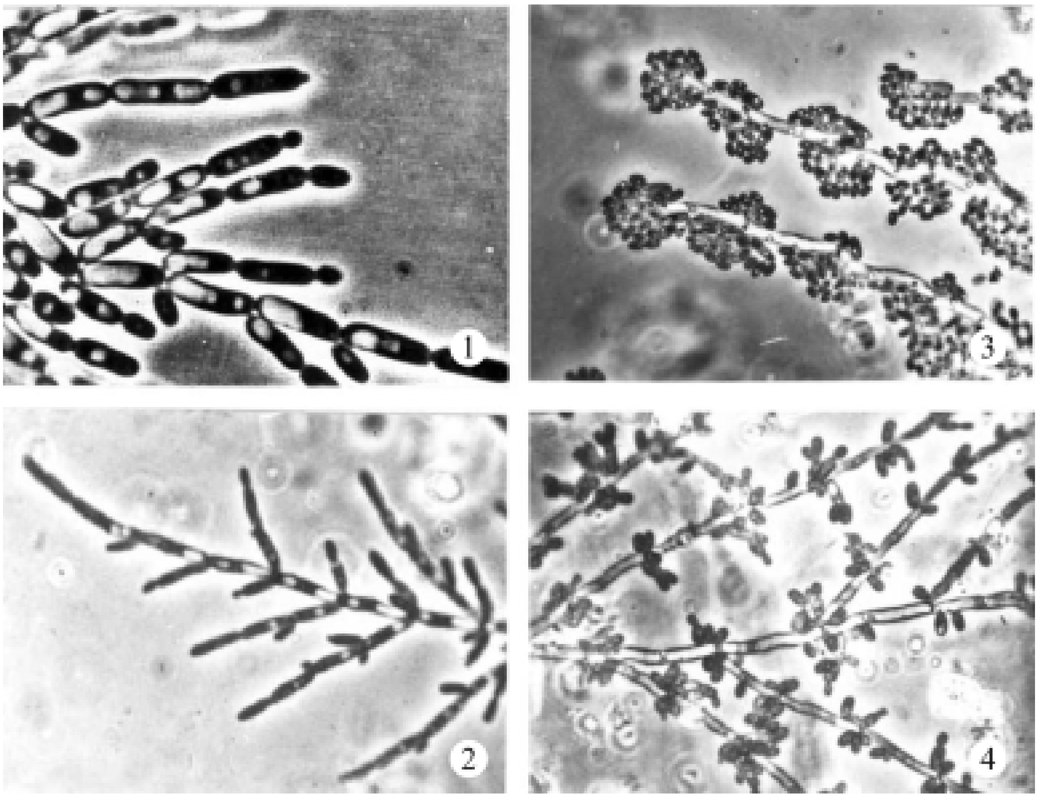


Рис. 22. Различные виды псевдомицелия: 1, 2 – примитивный (из клеток одного типа), 3, 4 – сложный, дифференцированный на стволовые клетки и бластоспоры.

фы, и расположенные на них одиночные или собранные гроздьями круглые, овальные или клиновидные почки, которые в этом случае называются **бластоспорами**. Образование псевдомицелия характерно для многих аскомицетовых дрожжей, например из родов *Candida*, *Pichia*.

Диморфизм и плеоморфизм. Для дрожжей, как и для других грибов, известны явления диморфизма и плеоморфизма. Мицелиально-дрожжевой диморфизм проявляется в том, что один вид может расти в двух формах - одноклеточной и мицелиальной. Это явление хорошо известно в микологии и связано с двумя типами роста - сферическим или апикальным (рис. 23). Есть дрожжи, которые образуют только одноклеточные популяции, хотя могут расти в виде конгломератов из отдельных клеток; они могут формировать структуры, внешне имитирующие мицелий. Типичный дрожжевой рост в процессе всего жизненного цикла характерен для многих видов аскоспоровых дрожжей. Другая группа дрожжевых грибов имеет либо мицелиальную, либо одноклеточную форму роста в зависимости от стадии жизненного цикла. Например, у базидиомицетовых дрожжей обычно гаплоидная фаза одноклеточна, а диплоидная (дикариотическая) - мицелиальная.

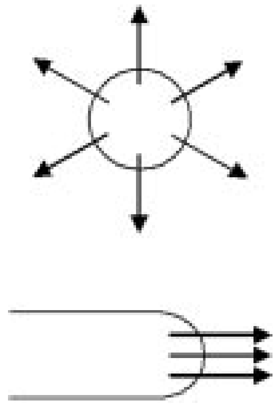


Рис. 23. Сферический (вверху) и апикальный (внизу) рост клетки грибов.

Третья группа дрожжей проявляет дрожжевой или мицелиальный рост в зависимости от условий среды. Например, переход к одноклеточной фазе роста может быть связан с условиями аэрации. Многие патогенные или условно-патогенные грибы в организме хозяина растут как дрожжи, а сапротрофно - как мицелиальные организмы. Так, возбудитель кокцидиоидоза у человека и животных - диморфный гриб *Coccidioides immitis* - существует в культуре в мицелиальной форме, а в организме теплокровных мицелий превращается в артроспоры, из которых формируются отдельные клетки с эндоспорами. Таким образом, изучение условий и механизмов регуляции такого перехода очень важно для понимания патогенеза разных микозных заболеваний.

О явлении плеоморфизма говорят, когда в жизненном цикле одного вида существуют два или несколько видов бесполого размножения. Плеоморфизм у дрожжевых грибов выражается в том, что наряду с основ-

ным типом вегетативного размножения почкованием или делением некоторые дрожжи образуют особые бесполые структуры, предназначенные специально для распространения или сохранения вида, например, баллистоспоры, эндоспоры, хламидоспоры.

Баллистоспоры - это экзогенные споры (конидии), которые формируются на заостренных кончиках особых выростов - стеригм, и при созревании с силой отстреливаются за счет капельно-экскреторного механизма (рис. 24). Таким же образом у базидиомицетов отстреливаются созревшие базидиоспоры за счет резкого увеличения тургорного давления в стеригме и выталкивания капельки жидкости, которая и несет на себе спору. Способность к образованию баллистоспор, рассеиваемых через воздушную среду, свойственна дрожжам, обитающим на надземных частях растений. Примерами могут служить дрожжи родов *Sporidiobolus*, *Sporobolomyces*, *Bullera* и др.

Эндоспоры представляют собой бесполые эндогенные клетки, формирующиеся чаще всего в гифах мицелиальных дрожжей (например, *Trichosporon*) из участков цитоплазмы, которые отделяются мемб-

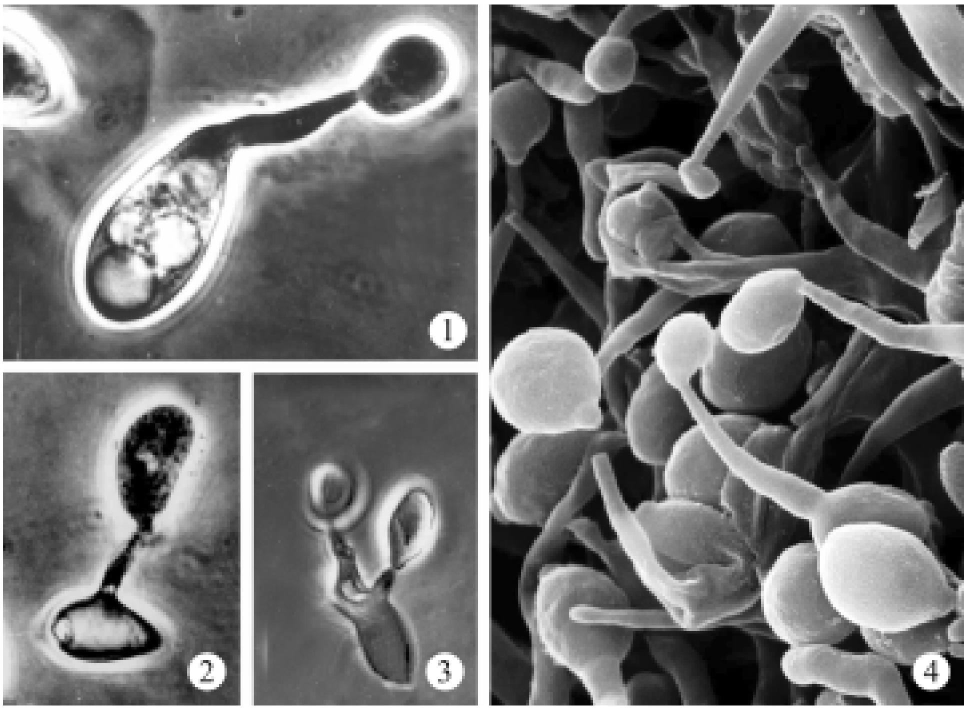


Рис. 24. Баллистоспоры у дрожжей: 1-3 - Sprobolomyces, световой микроскоп, 4 – Bulleromyces, сканирующий электронный микроскоп.

раной и затем образуют клеточную стенку. Процесс можно трактовать как эндогенное почкование. Количество эндоспор в одной клетке строго не фиксировано. После разрушения мицелия эндоспоры освобождаются и начинают почковаться. Эндоспоры ни по структуре, ни по устойчивости не отличаются от вегетативных клеток.

Хламидоспоры - крупные сферические или овальные клетки, которые образуются как из одиночных дрожжевых вегетативных клеток, так и на мицелии: интеркалярно, латерально или терминально, по одной или цепочками (рис. 25). Хламидоспоры на мицелии образует, например, *Candida albicans*. Из дрожжевых клеток формируются хламидоспоры в старых культурах *Lipomyces*, *Cryptococcus*, *Metschnikowia*, *Phaffia*. Хламидоспоры отличаются утолщенной многослойной клеточной стенкой и высокой концентрацией запасных веществ. В хламидоспорах значитель-

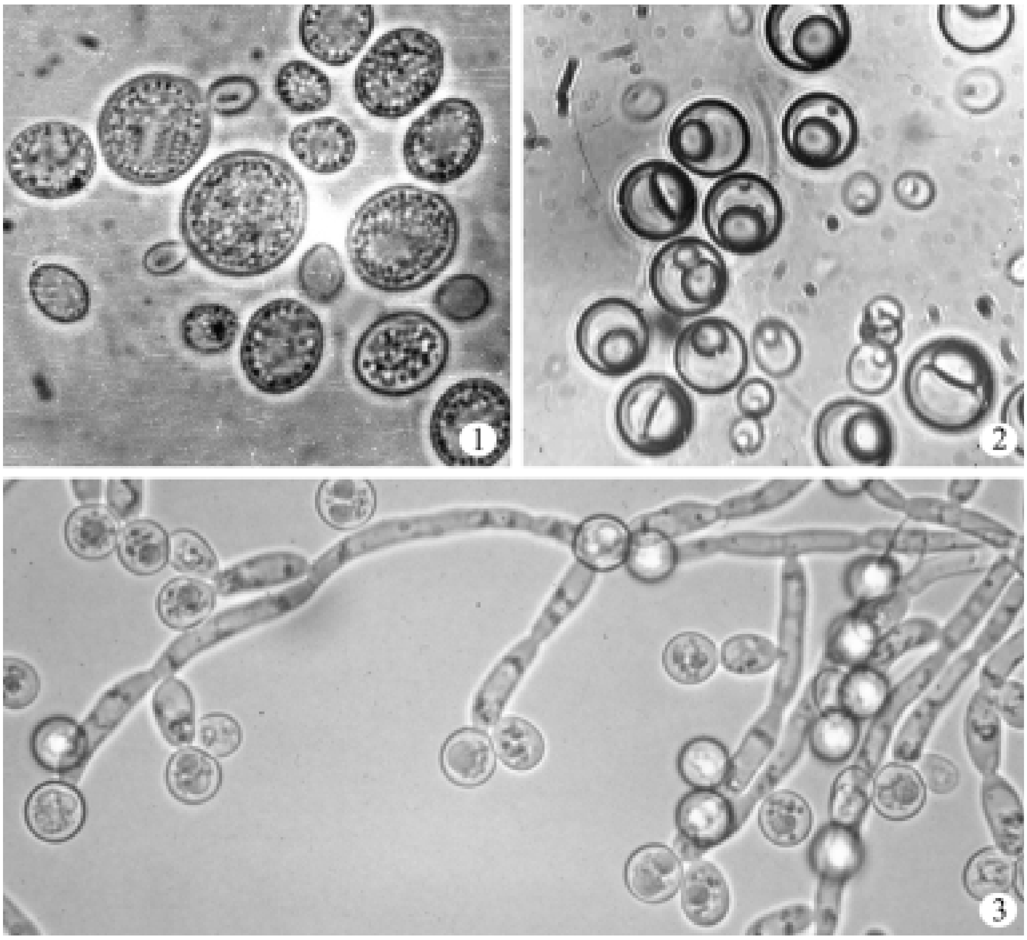


Рис. 25. Хламидоспоры у дрожжей: 1 – Phaffia rhodozyma, 2 – Metschnikowia pulcherrima, 3 – хламидоспоры на мицелии у Candida albicans.

но снижена метаболическая активность, их клеточные стенки обладают устойчивостью к действию литических факторов. Биологическая функция таких структур заключается в длительном сохранении жизнеспособности в условиях голодания или низкой влажности. В средах с легкодоступными источниками энергии такие хламидоспоры прорастают путем почкования, или образуют трубки прорастания. В других случаях хламидоспоры выступают как структуры, в которых проходит кариогамия и мейоз, что ведет к образования асков (например, у *Metschnikowia pulcherrima*) или базидий (у базидиомицетовых дрожжей *Leucosporidium*, *Mrakia*, *Rhodosporidium*). В последнем случае такие структуры называют **телиоспорами**.

Истинный мицелий дрожжевых грибов имеет разное строение в зависимости от таксономического положения.

У аскоспоровых дрожжей мицелий разделен септами, которые преимущественно простые: в виде сомкнутой линии, с плазмодесмами или тельцами Воронина. Только у видов рода *Ambrosiozyma* септовые поры окружены утолщением, а в отверстии имеется пробка. Таким образом, морфологически они сходны с долипорами базидиомицетов. У базидиомицетовых дрожжей в совершенных стадиях жизненного цикла обычно развивается дикариотический мицелий с пряжками (рис. 26), а септовые поры имеют сложное строение: с везикулярными колпачками, с фрагментарными парентосомами или без них. Строение септ - ценный таксономический признак, обычно не варьирующий среди представителей одного рода (см. стр. 145-147).

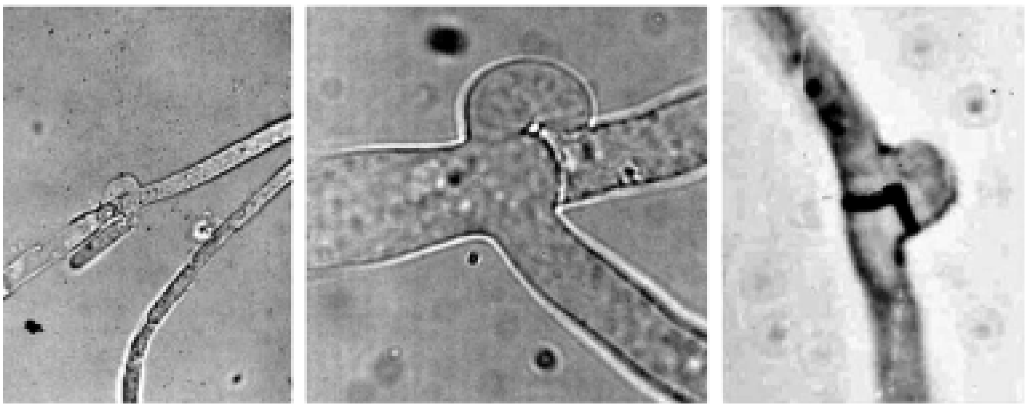


Рис. 26. Пряжки на дикариотическом мицелии базидиомицетовых дрожжеподобных грибов.

Клеточный цикл

В основе морфогенеза лежит дифференциация клетки в процессе прохождения ею клеточного цикла (рис. 27). Клеточным, или митотическим циклом, называют период между отделением дочерней клетки от материнской и ее последующим делением (образованием первой почки). Он подразделяется на **интерфазу** (S-фаза) и **митоз** (М-фаза). В интерфазе синтез ДНК занимает только часть времени между двумя периодами роста - предсинтетической фазой G1 и постсинтетической фазой G2. У *Saccharomyces cerevisiae* все 4 фазы цикла приблизительно равны по времени, а у *Schizosaccharomyces pombe* фазы G1, S и М короткие и клетка большую часть клеточного цикла находится в фазе роста G2. Клеточный цикл завершается М-фазой, составными этапами которого являются **кариокинез** (деление ядра, митоз) и **цитокинез** (деление клетки).

Рис. 27. Стадии клеточного цикла у дрожжей: G1 – предсинтетическая фаза, S – интерфаза, начало образования почки, G2 – постсинтетическая фаза, М –митоз.

Митотические циклы приводят к увеличению числа клеток в популяции и, таким образом, обусловливают ее рост.

Для ориентировочного определения стадий клеточного цикла используют разные диагностические признаки (маркеры цикла). К морфологическим маркерам относятся размеры клетки и почки, состояние ядра. В G1-фазе ядро имеет только одну центриолярную бляшку, в начале S-фазы она удваивается. При этом в цитоплазме возникают внутриядерные микротрубочки, которые у *Saccharomyces cerevisiae* участвуют в ориентации почки и формировании веретена. В начале G2-фазы бляшки на ядре расходятся и образуют митотическое веретено. Почка за время прохождения G2-фазы достигает размеров материнской клетки, а ядро мигрирует в межклеточную перетяжку, где происходит митоз. После кариокинеза происходит цитокинез: материнская и дочерняя клетки разделяются сначала мембраной, затем первичной и вторичной септами и отделяются друг от друга.

Альтернативные программы дифференцировки клетки - митоз, конъюгация и споруляция - контролируются в G1 фазе до момента «старта», пока клетка не дифференцирована и может реализоваться по четырем направлениям в зависимости от природы самой клетки и условий.

Изучение закономерностей клеточной дифференциации может дать объяснение поведению популяций в разных условиях природных местообитаний, при лабораторном и промышленном культивировании, объяснить причины утраты способности чистых культур дрожжей к спорообразованию при хранении в коллекциях.

ПОЛОВОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ И ЖИЗНЕННЫЕ ЦИКЛЫ ДРОЖЖЕЙ

Половое размножение - это сложная цепь событий, включающая контакт двух гаплоидных клеток, их слияние (сначала слияние цитоплазмы - **плазмогамия**, а затем сразу же или со значительной задержкой слияние ядер - **кариогамия**), образование диплоидной **зиготы**, ядро которой затем либо делится мейотически с восстановлением гаплоидного состояния, либо дает начало диплоидному поколению клеток. Таким образом, половое размножение связано со сменой ядерных фаз. У дрожжей, как и у всех грибов, чередование ядерных фаз сопряжено с образованием половых гаплоидных спор - аскоспор или базидиоспор.

Весь ход событий в развитии организма от одной стадии до этой же стадии в следующем поколении составляет **жизненный цикл**, или **онтогенез**. Полный жизненный цикл включает вегетативную стадию, в течение которой клетки размножаются при помощи митотического деления, и половой цикл, включающий мейотическое деление ядра. У мицелиальных грибов вегетативное размножение занимает обычно одну из стадий жизненного цикла: у аскомицетов - преимущественно гаплоидную, у базидиомицетов - дикариотическую. У дрожжей вегетативное размножение может происходить в любой фазе жизненного цикла. На этом основании различают гаплоидные виды, у которых вегетативное размножение происходит в гаплоидной фазе, диплоидные виды, размножающиеся вегетативно в диплофазе, а также гапло-диплоидные, образующие стабильные как гапло-, так и диплофазы, или же смешанные популяции гаплоидных и диплоидных клеток.

В половом процессе у дрожжей участвуют обычные соматические, то есть неспециализированные клетки. Такой тип полового процесса называется **соматогамией**. Существуют разновидности соматогамии: **гологамия** - слияние (копуляция) двух морфологически сходных соматических клеток, **педогамия** - слияние материнской и дочерней клетки-почки, **адельфогамия** - слияние сестринских клеток-почек. Копулировать могут не любые две клетки, а лишь клетки, относящиеся к различным **типам спаривания**. Термин «тип спаривания» используется вместо термина «пол» в том случае, когда копулирующие клетки не имеют морфологических отличий, а различаются лишь физиологически. У од-

них дрожжей при вегетативном размножении происходит разделение клеток на различные типы спаривания (обозначаемые a и α, и, следовательно, в потомстве одной клетки возможен половой процесс. Такие дрожжи называют **гомоталличными**. У других - клетки не способны переключаться с одного типа спаривания на другой, и половой процесс в потомстве одной клетки невозможен. В этом случае дрожжи называют **гетероталличными**. Половой процесс у таких дрожжей происходит только при объединении клеток из популяций a и α типов спаривания.

Дифференциация пола у дрожжей. Особенности конъюгации клеток при половом размножении наиболее хорошо изучены у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. При половом размножении могут конъюгировать не любые две клетки, а только клетки различных типов спаривания. Эти клетки различаются между собой только по одному генетическому локусу, обозначаемому mat (mating - спаривание). Локус mat может находиться в двух аллельных состояниях: mat a и mat α. Клетки, несущие локус mat a или mat α, обозначаются соответственно как a- и α-клетки.

Локусы mat a и mat α ответственны за образование так называемых половых факторов (соответственно a- и α-фактора), которые представляют собой олигопептиды. a-Фактор, образуемый a-клетками, способен блокировать процесс митотического деления у α-клеток. α-Фактор, образуемый α-клетками, блокирует митотическое размножение у a-клеток. Поэтому конъюгация возможна только при взаимодействии a- и α-клеток, но не a x a или α x α.

После конъюгации a- и α-клеток образуется диплоидная клетка (зигота), имеющая генотип a/α. Только такие клетки способны к мейотическому делению с образованием половых спор. Специальными генетическими методами можно получить диплоиды a/a и α/α. Такие клетки не способны спорулировать. В процессе мейотического деления a/α клетки образуется 4 гаплоидных ядра, два из которых a-типа, а два - α-типа. Поэтому в типичном четырехспоровом аске две аскоспоры принадлежат к a-типу, а две - к α-типу.

Кроме локуса mat, ответственного за образование полового фактора, в клетке имеются еще две копии этого локуса (hml и hmr), находящихся в других сайтах той же хромосомы. Один из них всегда находится в состо-

янии mat a, другой - mat α. Однако эти локусы не экспрессируются, то есть находятся в «молчащем» состоянии. При митотическом делении клетки происходит замена работающего mat-участка на копию, снятую с неэкспрессирующегося участка. При этом копия снимается с того локуса, который находится в другом аллельном состоянии, нежели работающий mat-участок. Таким образом, при вегетативном размножении происходит превращение клетки в клетку противоположного типа спаривания, так называемый «свитч». За такой обмен участками хромосомы ответственен, в частности, ген ho, который кодирует эндонуклеазу, специфически вырезающую заменяемый участок ДНК.

В клоне, полученном, например, из а-клетки, появляются α-клетки и может идти половой процесс. Такие дрожжи называют гомоталличными. Если же имеет место какое-либо нарушение в системе генов, контролирующих переход в другой тип спаривания (например, мутирован ген ho), то клон, полученный, скажем, из а-клетки, будет состоять только из а-клеток, и половой процесс будет невозможен. Такие дрожжи с нарушенным процессом свитча называют гетероталличными.

Явление гетероталлизма широко распространено среди дрожжевых грибов. В некоторых случаях гетероталличны отдельные штаммы внутри вида. Например, существуют гомо- и гетероталличные штаммы *Saccharomyces cerevisiae*. В других случаях признак гетероталлизма является видовым. Существуют и исключительно гомоталличные виды. Например, бессмысленно говорить о явлении гетероталлизма у дрожжей с педогамным половым процессом.

Более сложные случаи генетической детерминации пола наблюдаются у базидиальных дрожжей. У видов в родах *Rhodosporidium*, *Leucosporidium*, *Sporidiobolus* тип спаривания не биполярный, а тетраполярный, так как определяется не двумя (а и α), а четырьмя аллелями, которые принято обозначать как А, а, В, в. В этом случае скрещивание возможно лишь между штаммами, которые различаются всеми четырьмя аллелями: АВ × ав или Ав × аВ. В комбинациях ав × ав или АВ × АВ спаривание невозможно. При взаимодействии штаммов, различающихся только по одному локусу: АВ × аВ, АВ × Ав, ав × Ав или ав × аВ, иногда наблюдается копуляция клеток, но дикариотический мицелий, как правило, не развивается.

Аскомицетовые дрожжи

К аскомицетам относят дрожжи, половые споры которых формируются эндогенно внутри особых вместилищ - сумок, или асков. В отличие от мицелиальных аскомицетов, большая часть жизненного цикла которых проходит в гаплоидной фазе, а диплоидна только молодая сумка, среди аскоспоровых дрожжей есть виды с разными типами онтогенеза: гаплоидным, диплоидным и гапло-диплоидным. При этом аском может стать либо непосредственно зигота (*Schizosaccharomyces*, *Zygosaccharomyces*), либо отдельная диплоидная вегетативная клетка (*Saccharomyces*, *Saccharomycodes*), либо сумка развивается как новообразование с участием так называемых «активных» почек, выполняющих функцию гамет (*Lipomyces*). Аски могут также формироваться из хламидоспор (*Metschnikowia*), из клеток псевдомицелия (*Arthroascus*), или на истинном мицелии (*Saccharomycopsis, Stephanoascus*).

В любом случае аски формируются из диплоидных клеток после мейотического деления ядра (рис. 28). Мейоз представляет собой два следующих друг за другом деления ядра с однократным удвоением хромосом. Перед вторым делением хромосомы не удваиваются, поэтому в результате происходит редукция числа хромосом и возникают четыре гаплоидных ядра. Затем в районе ядерных бляшек начинают формироваться мембраны, которые постепенно разрастаются и охватывают часть цитоплазмы аска. После образования аскоспор остается небольшое количество «неиспользованной» цитоплазмы. Между двумя листками мембран закладывается клеточная стенка аскоспоры.

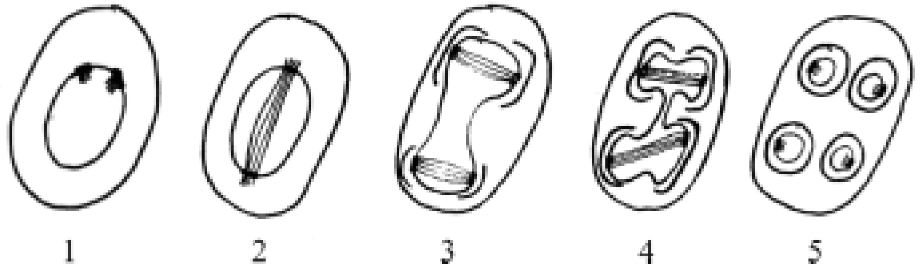


Рис. 28. Схема поведения ядра во время мейоза и образование аскоспор у Saccharomyces cerevisiae: 1,2 - первое деление, 1 - удвоение бляшки, 2 - образование веретена, 3,4 - второе деление, формирование клеточной стенки аскосор, 5 - аск с аскоспорами.

Аскоспоры отличаются от вегетативных клеток более толстой и многослойной клеточной стенкой, меньшим развитием внутриклеточных мембранных систем, отсутствием вакуолей. Эти особенности связаны с пониженной метаболической активностью аскоспор. Обычно аскоспоры содержат большое количество запасных веществ, чаще всего - липидов. Аскоспоры дрожжей - это типичные «покоящиеся» споры, способные более или менее длительный период существовать в неактивном состоянии. Однако, устойчивость аскоспор к ряду повреждающих факторов, например, к повышенным температурам, обычно не намного выше, чем у вегетативных клеток.

Аскоспоры дрожжей очень разнообразны по форме (рис. 29). Они могут быть круглыми, овальными, бобовидными, чечевицеобразными, серповидными, игловидными и т.д. Кроме того, аскоспоры могут иметь на поверхности клеточной стенки различные скульптурные образования, которые хорошо выявляются в электронном микроскопе. За счет таких образований аскоспоры могут быть бородавчатыми, сатурновидными, напоминающими грецкий орех и пр. Морфология асков зависит от способа их образования (зиготические и азиготические, одиночные

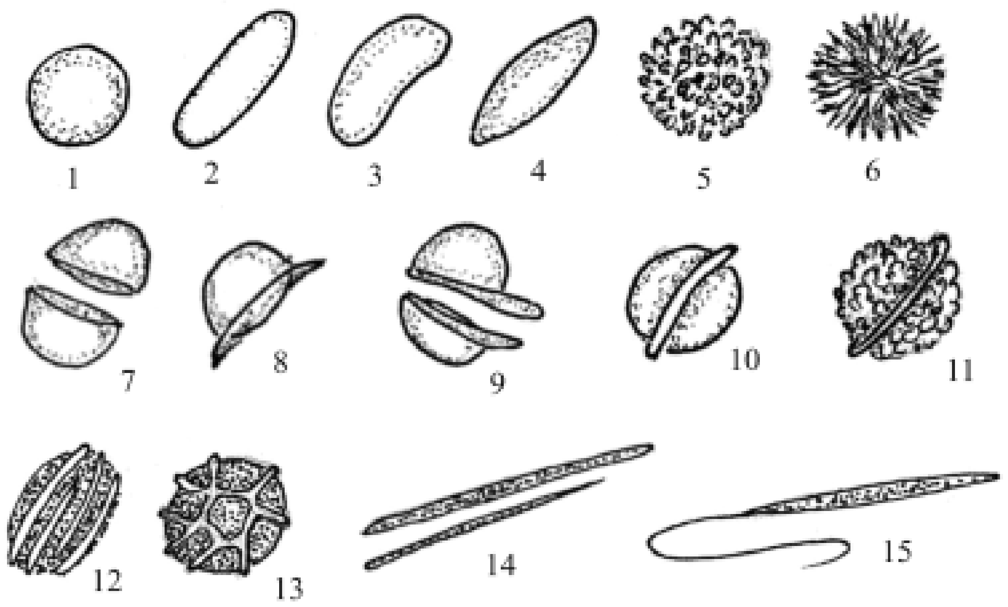


Рис. 29. Форма аскоспор у различных дрожжей: 1 - Saccharomyces, 2 - Lodderomyces, 3 - Kluyveromyces, 4 - Wingea (=Debaryomyces), 5 - Debaryomyces, 6 - Nadsonia, 7,8 - Pichia, 9 - Wickerhamia, 10 - Williopsis, 11 - Schwanniomyces (=Debaryomyces), 12,13 - Lipomyces, 14 - Metschnikowia, 15 - Nematospora (=Eremothecium).

или на мицелии), типа полового процесса, количества и формы аскоспор (рис. 30). Количество аскоспор в аске у разных видов может быть от одной до нескольких десятков. Наиболее часто встречаются аски с 1,2,4

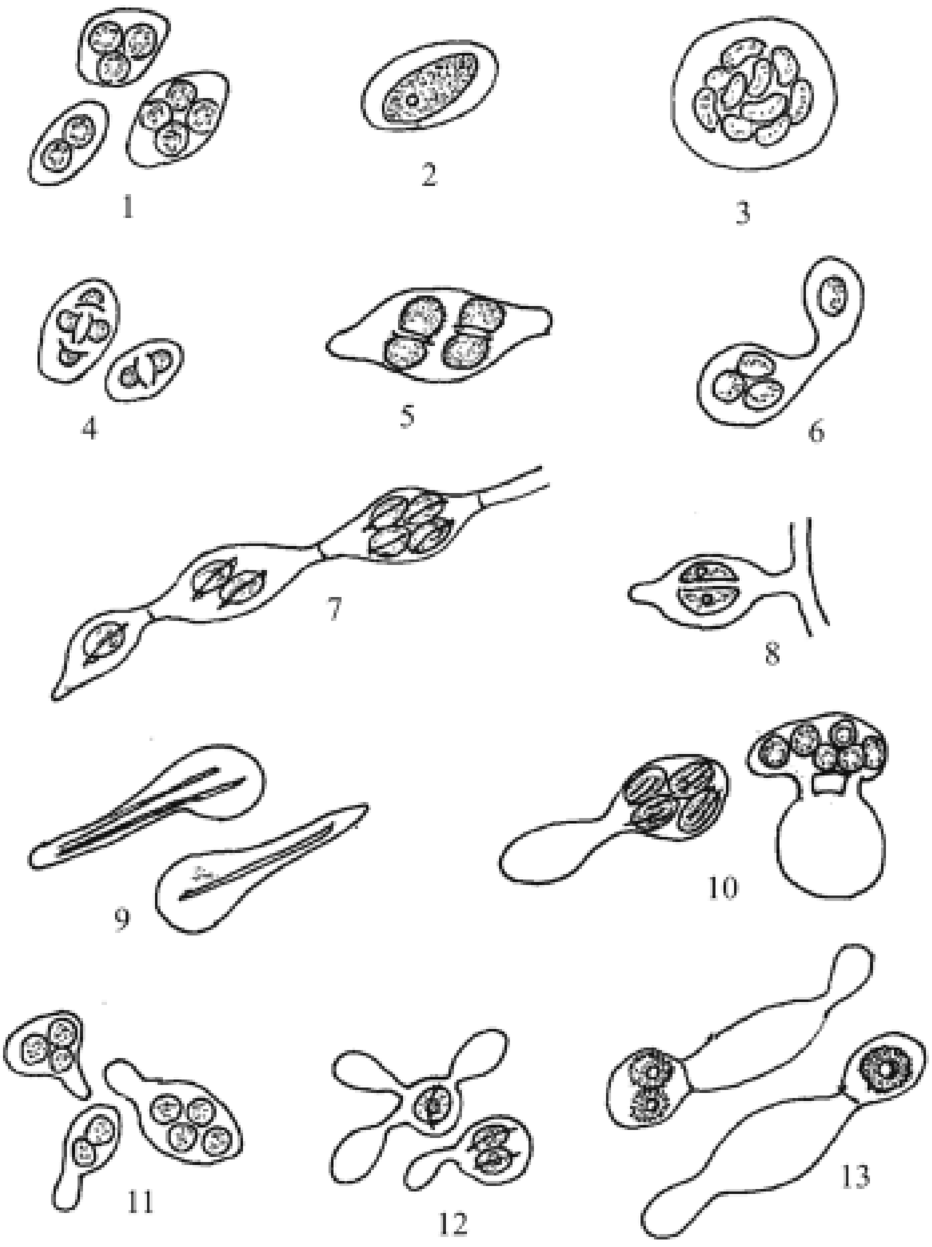


Рис. 30. Типы асков у аскомицетовых дрожжей: 1-5 - азиготические аски, развивающиеся из диплоидных клеток, 1 - Saccharomyces, 2 - Lodderomyces, 3 - Kluyveromyces, 4 - Pichia,5 - Hanseniaspora, 6 - зиготический аск у Zygosaccharomyces, развивающийся непосредственно из зиготы, 7- 8 - аски на мицелии, 7 - Arthroascus, 8 - Stephanoascus, 9 - аски Metschnikowia, развивающиеся из хламидоспор, 10 - мешковидные аски у Lipomyces в результате адельфогамии, 11-13 - аски после педогамной копуляции, 11- Debaryomyces, 12 - Williopsis, 13 - Nadsonia

и 8 аскоспорами. Характерные мешковидные аски с многочисленными аскоспорами образуют некоторые виды почвенных дрожжей из рода *Lipomyces*. Морфология асков, аскоспор, тип полового процесса имеют большое таксономическое значение. Эти признаки используются в систематике дрожжей при выделении таксонов родового уровня. Рассмотрим несколько примеров жизненных циклов аскомицетовых дрожжей.

Гаплоидные дрожжи

У таких дрожжей (рис. 31) вегетативное размножение происходит в гаплоидной фазе, а диплоидная стадия очень короткая: образовавшееся

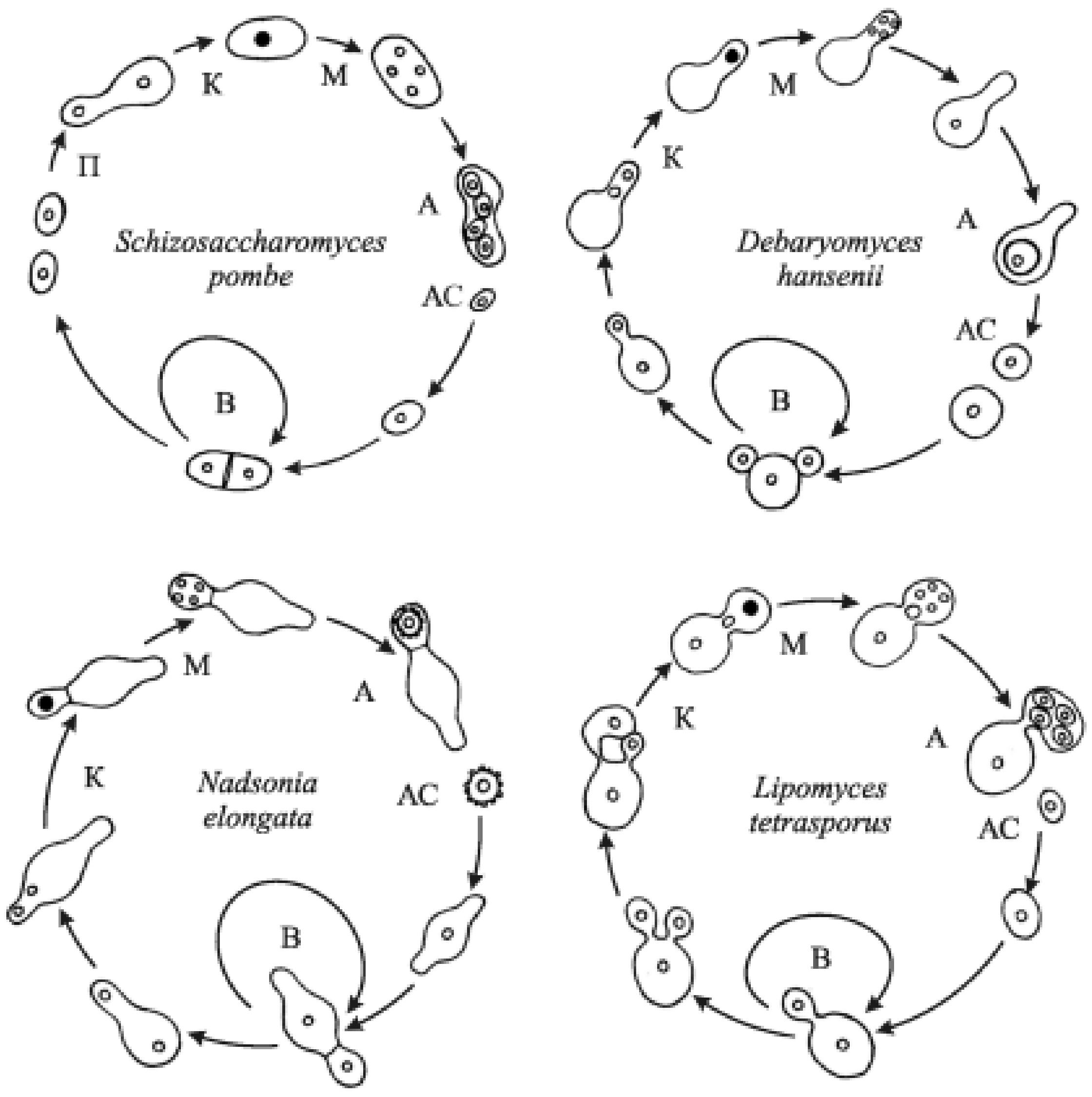


Рис. 31. Жизненные циклы гаплоидных аскомицетовых дрожжей; стадии: В – вегетативное размножение, П – плазмогамия, К – кариогамия, М – мейоз, А – аск, АС – аскоспоры.

после кариогамии диплоидное ядро сразу же делится мейотически с восстановлением гаплоидного состояния.

Schizosaccharomyces pombe. Половой процесс - гологамия. Две морфологически сходные гаплоидные вегетативные клетки образуют выросты, с помощью которых происходит контакт, а затем слияние содержимого клеток - плазмогамия, и непосредственно за ней - кариогамия. Возникает диплоидная зигота, которая вегетативно не размножается, а ядро ее сразу переходит к мейотическому делению. Образующиеся четыре гаплоидных ядра включаются в аскоспоры. После освобождения из аска аскоспоры прорастают и дают начало длительной стабильной вегетативной фазе.

Debaryomyces hansenii. Половой процесс - педогамия. Гаплоидная клетка образует почку, в которую мигрирует ядро материнской клетки, и, таким образом, почка становится двуядерной. Затем в почке происходит кариогамия. Возникшее в почке диплоидное ядро сразу же делится мейотически. После мейоза одно из гаплоидных ядер (иногда 2, 3 или все 4) переходит в материнскую клетку. Последняя становится аском, который несет на себе придаток - пустую мейозную почку. Оставшиеся не включенными в аскоспоры ядра дегенерируют.

Nadsonia elongata. Половой процесс также педогамного типа, но с некоторыми особенностями. Слияние ядер почки и материнской клетки происходит в другой почке, которая образуется на втором полюсе. Эта вторая почка затем отделяется от материнской клетки септой и становится зиготой, а после мейоза - сумкой с одной, редко с 2-3 аскоспорами.

Lipomyces tetrasporus. Половой процесс - адельфогамия. Этот тип полового процесса сходен с гаметангиогамией у зигомицетов, но роль гамет здесь выполняют активные почки. Такие почки формируются на гаплоидных вегетативных клетках на поздних стадиях роста после периода вегетативного размножения. Обычно две почки на одной материнской клетке выполняют функцию гамет и копулируют между собой, образуя зиготу, которая затем разрастается в виде мешка и отделяется перегородкой от несущей ее клетки. Ядро зиготы делится мейотически и она превращается в четырехспоровый мешковидный аск, прикрепленный к материнской клетке, на которой может затем формироваться вторая и третья сумки.

Кроме типичной адельфогамии у липомицетов могут быть иные способы копуляции клеток. Могут копулировать почки различных клеток или почка с морфологически отличающейся от нее другой клеткой, образующей вырост. Другие виды липомицетов, в отличие от *Lipomyces tetrasporus*, имеют многоспоровые сумки, которые образуются в результате дополнительных митотических делений гаплоидных ядер. Число спор в одном таком мешковидном аске может достигать тридцати и более.

Диплоидные дрожжи

У этих дрожжей вегетативно размножаются только диплоидные клетки. Гаплофаза ограничена молодыми асками и аскоспорами (рис. 32).

Saccharomycodes ludwigii. У этих дрожжей диплоидизация происходит при слиянии аскоспор. Четыре гаплоидные аскоспоры прорастают и начинают копулировать попарно, когда они еще находятся в аске. Образовавшиеся диплоидные клетки размножаются вегетативно, образуя стабильную и длительную диплофазу. При соответствующих условиях, когда снимается контроль митотического деления ядра, диплоидная клетка вступает в митотический цикл и превращается в аск с 4 аскоспорами.

Hanseniaspora uvarum. Жизненный цикл сходен с описанным выше за исключением того, что споры не копулируют, но ядро в зрелой споре после освобождения ее из сумки в условиях, обеспечивающих вегетацию, делится мейотически. Образовавшиеся два гаплоидных ядра сливаются, образуя уже диплоидную клетку, способную к вегетативному

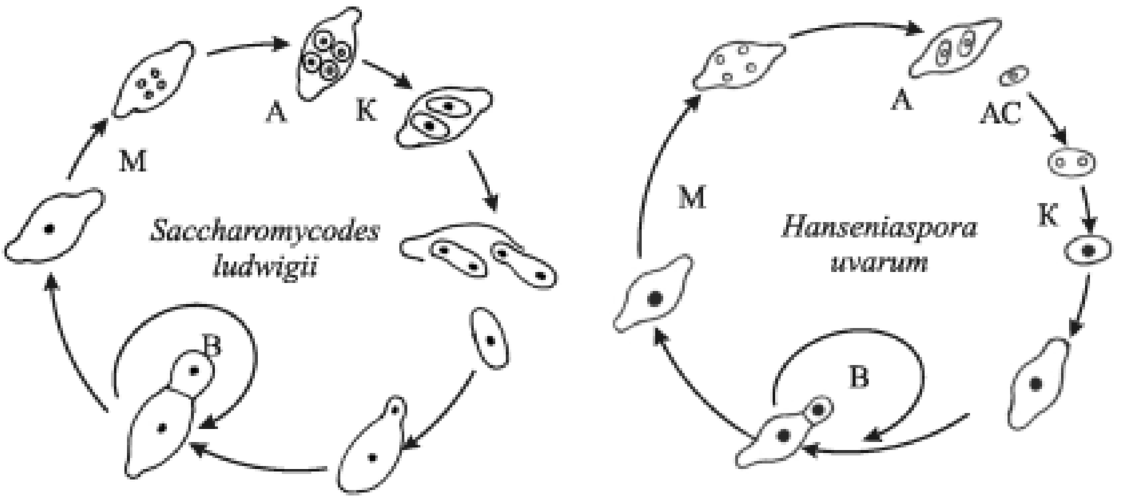


Рис. 32. Жизненные циклы диплоидных аскомицетовых дрожжей; обозначения см. на рис. 31.

размножению. Сходный цикл наблюдается и у почвенных дрожжей *Williopsis saturnus*.

Гапло-диплоидные дрожжи

Существуют дрожжи, у которых вегетативное размножение может происходить как в гаплоидной, так и в диплоидной фазах (рис. 33). Длительность той или другой фазы зависит от вида и от условий роста. Среди этих дрожжей есть как гомоталличные, так и гетероталличные виды.

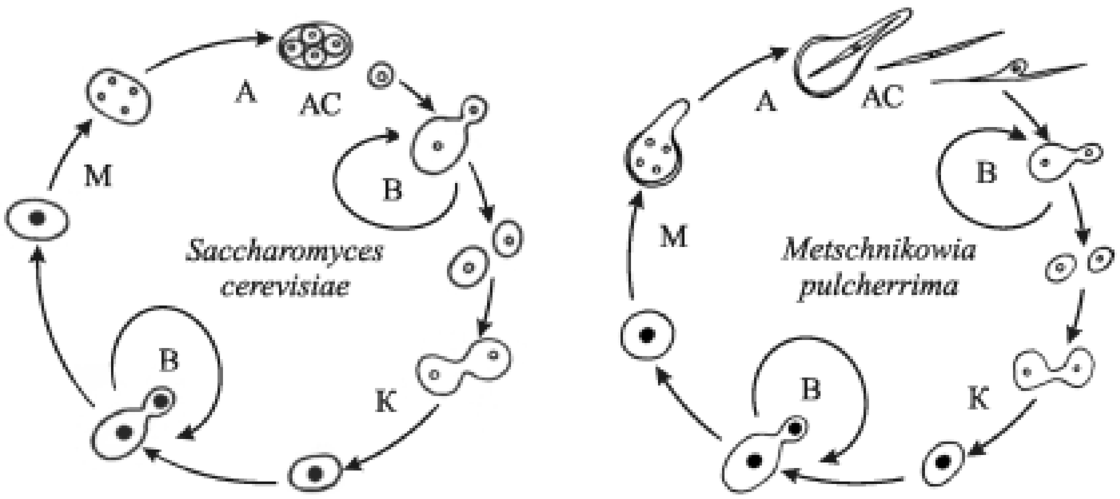


Рис. 33. Жизненные циклы гапло-диплоидных аскомицетовых дрожжей; обозначения см. на рис. 31.

Saccharomyces cerevisiae. Эти гомоталличные дрожжи вегетируют преимущественно в диплоидном состоянии, но у них имеется короткая вегетативная гаплоидная фаза. Диплоидная клетка в условиях дефицита легкодоступных источников углерода прекращает почковаться, и ядро ее делится мейотически. В результате она превращается в аск с 4 гаплоидными аскоспорами, которые после освобождения из аска прорастают и образуют гаплоидное поколение. Гаплоидные клетки обычно мельче диплоидных и имеют более округлую форму. Шрамы почкования у них сближены, почки образуются группами в одном локусе. После нескольких циклов почкования две клетки конъюгируют и сливаются, восстанавливая диплоидное состояние.

Metschnikowia pulcherrima. Диплоидные клетки этого вида размножаются вегетативно почкованием, но отдельные клетки увеличиваются в

размерах, образуют утолщенные оболочки и превращаются в диплоидные хламидоспоры. При прорастании хламидоспоры ее ядро мейотически делится, и непосредственно из хламидоспоры при ее прорастании образуется аск с 1-2 игловидными аскоспорами. Зрелые аскоспоры прорастают и дают начало гаплоидным почкующимся клеткам. Гаплоидные клетки после копуляции восстанавливают диплофазу. Все эти стадии довольно стабильны, поэтому в культурах *Metschnikowia pulcherrima* присутствуют одновременно мелкие гаплоидные клетки, более крупные диплоидные, а также хламидоспоры.

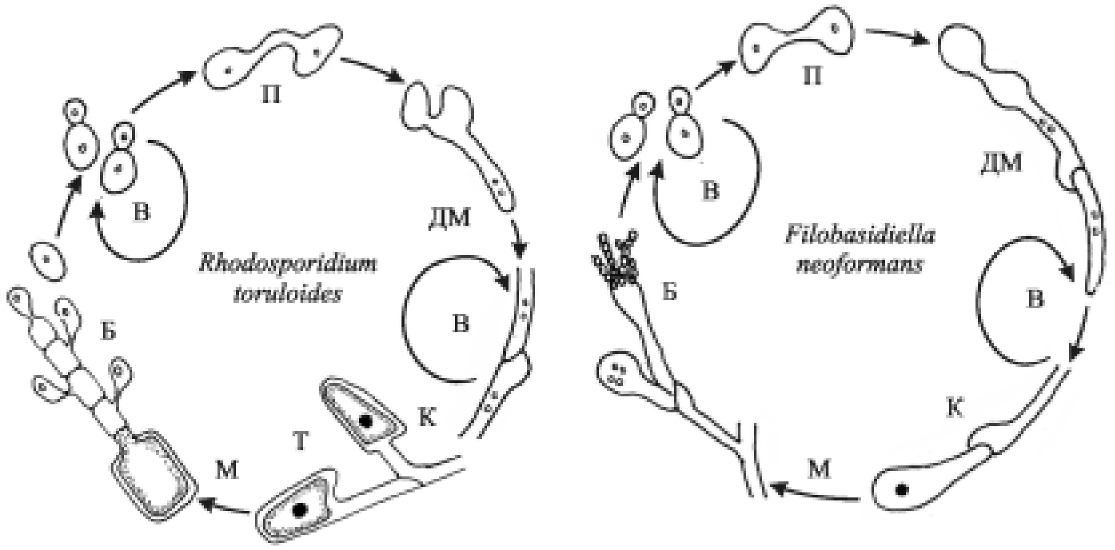
Базидиомицетовые дрожжи

В отличие от аскоспоровых дрожжей, все дрожжи, которые относят к базидиомицетам, образуют экзогенные половые споры (базидиоспоры). Плазмогамия и кариогамия, как правило, разделены во времени и значительную часть жизненного цикла занимает дикариотическая фаза, представленная дикариотическим мицелием с пряжками. Большинство видов гетероталличны и поэтому многие из них долгое время были известны только в гаплофазе как несовершенные дрожжи.

Базидиомицетовые грибы, которые имеют дрожжевую стадию в цикле развития, часто называют гетеробазидиомицетами. Это название было предложено Н.Патулляром еще в 1900 г. Основной признак таких грибов - наличие септированной или глубокорасчлененной базидии. Сейчас этот термин сохраняют для диморфных базидиомицетовых грибов с гаплоидной дрожжевой стадией. Их дикариотический мицелий часто паразитирует на растениях или плодовых телах других грибов.

Активное исследование жизненных циклов базидиомицетовых дрожжей началось лишь в конце 60-х - начале 70-х годов XX в., после того как японский миколог Исао Банно опубликовал результаты открытия полового цикла у хорошо известных и ранее считавшихся несовершенными «красных» дрожжей *Rhodotorula glutinis*. Ему удалось подобрать типы спаривания среди большого числа проверенных штаммов, и в результате их скрещивания он наблюдал образование дикариотического мицелия, на котором формировались структуры, морфологически сходные с хламидоспорами, то есть крупные клетки с сильно утолщенными оболочками и большим запасом внутриклеточных липидов. Именно в них затем

происходило слияние двух ядер и последующий мейоз с восстановлением гаплоидного состояния. Эти клетки получили название **телиоспор**. При прорастании они образовывали промицелий с поперечными септами, делящими его на 4 клетки. Эти клетки отпочковывали гаплоидные споридии, которые можно было отождествить с базидиоспорами гетеробазидиальных грибов. Весь наблюдаемый цикл оказался очень сходным с циклом развития головневых грибов. Совершенная стадия *Rhodotorula glutinis* была названа Банно *Rhodosporidium toruloides* (рис. 34). Позже сходный цикл был описан для некоторых баллистоспоровых дрожжей и для нескольких видов несовершенного рода *Candida*. Их телиоспоровые стадии получили соответственно родовые названия *Sporidiobolus* и *Leucosporidium*. Сейчас похожие полные или не завершенные жизнен-



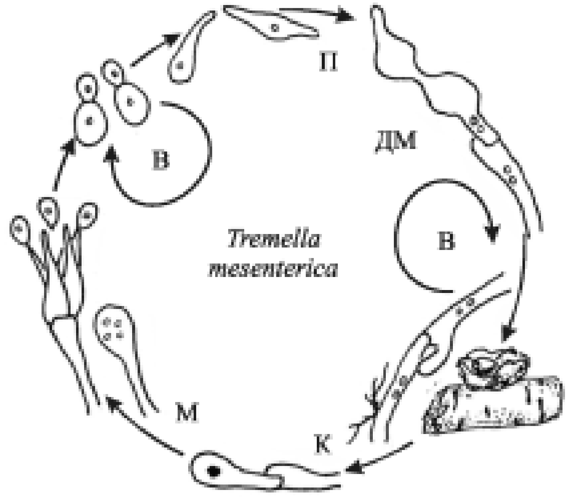


Рис. 34. Примеры жизненных циклов базидиомицетовых грибов с анаморфными дрожжевыми стадиями (диморфных базидиомицетов); стадии: В – вегетативное размножение, П – плазмогамия, ДМ – дикариотический мицелий, К – кариогамия, М – мейоз, Б – базидия.

ные циклы известны для многих базидиомицетовых дрожжей. Они различаются формой телиоспор (рис. 35), характером их прорастания и морфологией образующегося при этом промицелия (рис. 36).

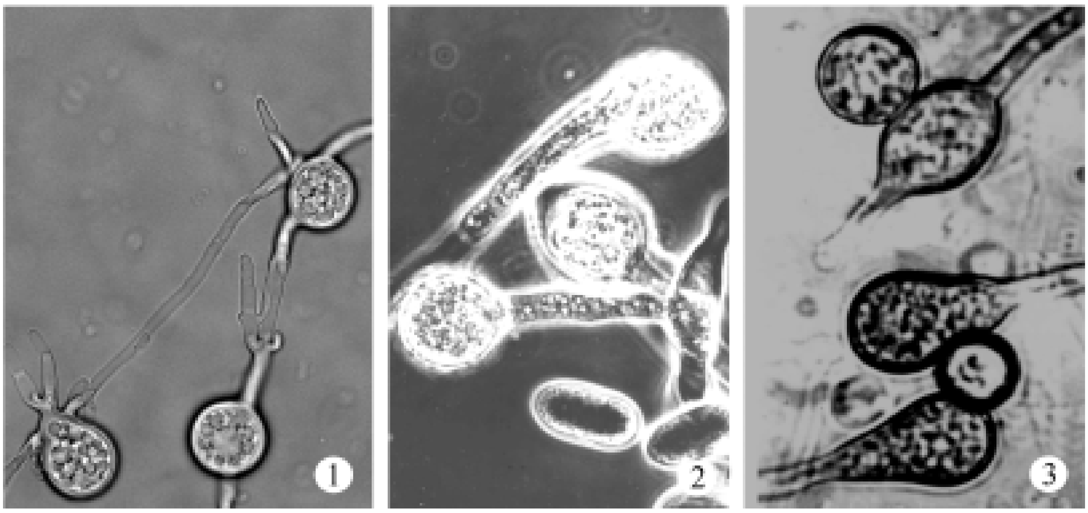


Рис. 35. Телиоспоры у базидиомицетовых дрожжей: 1 – Rhodotorula fujisanensis, 2 – Udeniomyces puniceus, 3 – Rhodosporidium babjeviae.

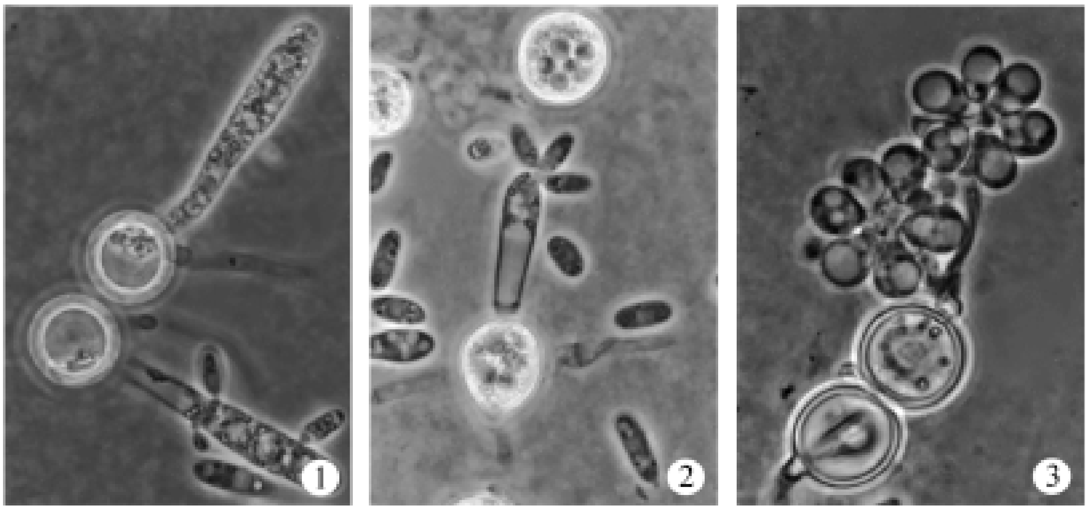


Рис. 36. Прорастание телиоспор промицелием со споридиями у различных видов базидиомицетовых дрожжей: 1 – Leucosporidium scottii, 2- Mrakia frigida, 3 – Cystofilobasidium capitatum.

Иной тип жизненного цикла базидиомицетов с дрожжевой анаморфой известен для дрожалковых грибов порядка *Tremellales*, относящихся к группе гименомицетов (см. рис. 34). Эти грибы известны достаточ-

но давно, так как в онтогенезе этих организмов есть стадия образования макроскопических плодовых тел (рис. 37), которые в природе обычно развиваются на старой древесине, на стволах мертвых деревьев. То, что базидиоспоры тремелловых грибов способны к почкованию, было замечено микологами еще в конце XIX в., однако наличие самостоятельной дрожжевой фазы в цикле развития тремелловых было установлено после детального изучения видов рода *Tremella* в 1960-х гг. В культурах отдельные базидиоспоры гетероталличных видов дают начало дрожжевым стадиям. Мицелий обычно развивается только при смешивании штаммов совместимых типов спаривания. Смешение соответствующих типов спаривания приводит к быстрой реакции клеток на выделяющиеся феромоны; почкование прекращается, развиваются конъюгационные трубки, через которые клетки копулируют, происходит плазмогамия и развивается мицелиальная дикариотическая стадия. У многих видов в подходящих условиях вскоре после формирования дикариотического мицелия начинается развитие плодовых тел. Плодовые тела обычно студенистые

Рис. 37. Плодовые тела различных видов дрожалковых грибов.

или хрящеватые, в виде бесформенных комочков или корочек. В плодовых телах образуются 2-4-клеточные базидии. Каждая клетка базидии несет почковидную, пассивно освобождающуюся спору или трубчатый вырост (эпибазидию), на котором формируются базидиоспоры. Освободившиеся базидиоспоры могут размножаться вегетативно почкованием или формированием баллистоспор.

В 70-х годах американской исследовательницей Квон-Чанг был обнаружен сложный жизненный цикл с образованием несептированных и нерасчлененных базидий у дрожжей *Cryptococcus neoformans* (см. рис. 34), которые долгое время были известны только в несовершенной форме и привлекали большое внимание медицинских микологов как возбудители опасной болезни - криптококкоза. Серотипы этого вида, обозначаемые A, B, C и D, оказались штаммами разных типов спаривания, которые при скрещивании формировали дикариотический мицелий с несептированными базидиями - голобазидиями. На базидии возникали апикальные вздутия и на них формировались гаплоидные базидиоспоры путем базипетального почкования с образованием цепочек. Совершенная стадия этих дрожжей была названа *Filobasidiella neoformans*. Позже подобные жизненные циклы были найдены и у некоторых других представителей рода *Cryptococcus*, в частности у *Cryptococcus uniguttulatus* (=*Filobasidium uniguttulatum*).

Характеристики жизненного цикла играют большую роль в систематике базидиомицетовых дрожжей. Однако очень часто у базидиомицетовых дрожжей, изолируемых из природных местообитаний, не удается наблюдать полный жизненный цикл при культивировании на лабораторных средах, поэтому их идентификация и классификация вызывают большие трудности. Значительные успехи в систематике таких анаморфных базидиомицетовых дрожжей достигнуты в последние десятилетия, особенно в связи с внедрением в таксономическую практику молекулярно-биологических методов. Как оказалось, группирование базидиомицетовых дрожжей на основе молекулярно-биологических признаков, в частности нуклеотидных последовательностей рРНК, часто не совпадает с характеристиками их жизненного цикла, особенно такими, как способность к образованию телиоспор, морфология базидий. Поэтому классификация базидиомицетовых дрожжей еще далека от завершенности и требует дальнейших исследований.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА

Хотя дрожжи и не так разнообразны по своему метаболизму, как бактерии, различные виды дрожжей могут катаболизировать разные соединения углерода и азота и образовывать различные конечные продукты (рис. 38).

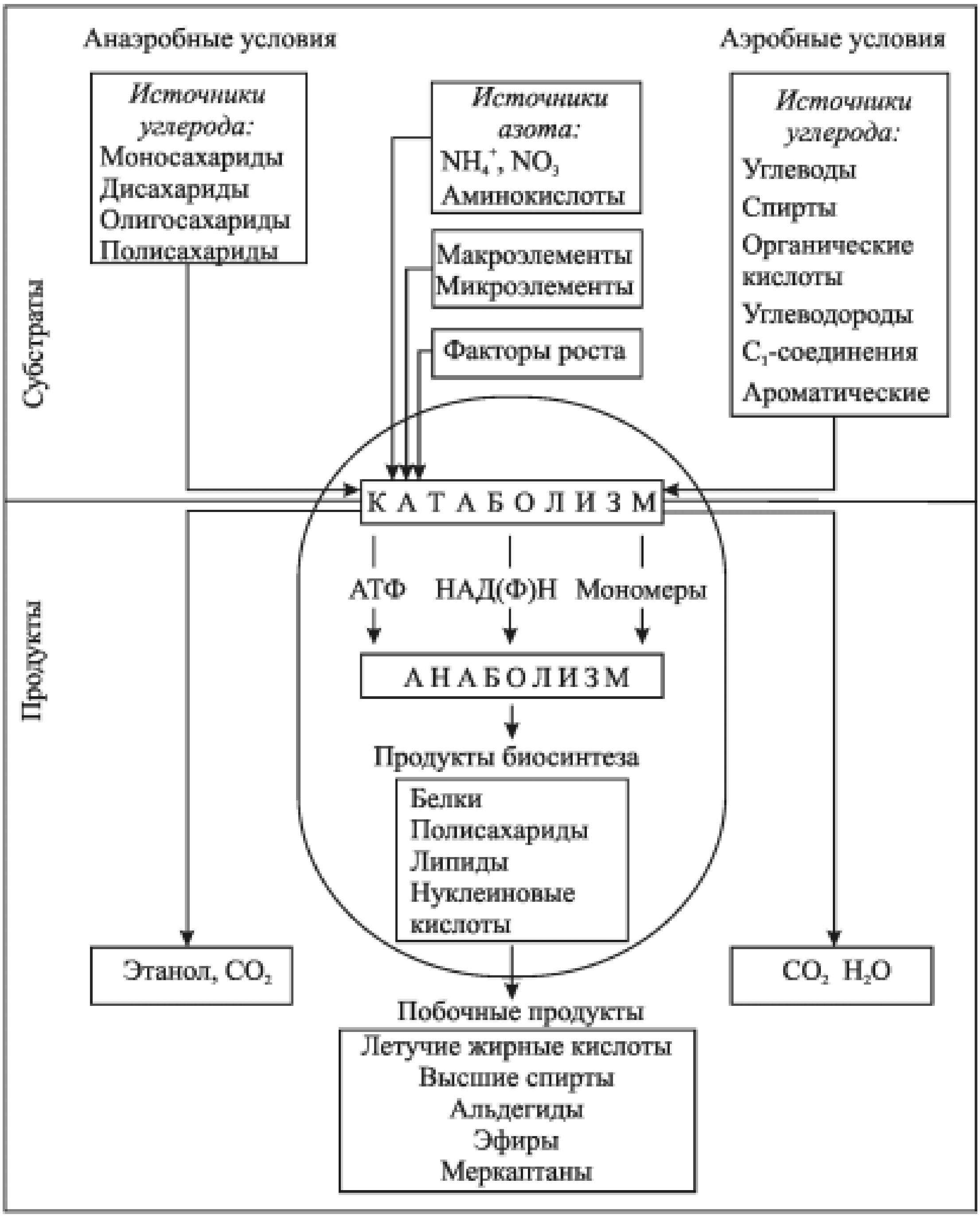


Рис. 38. Общая схема метаболизма дрожжей.

Спиртовое брожение

Наиболее известное свойство многих дрожжей - способность к спиртовому брожению. Многие виды дрожжей могут переключаться с бродильного метаболизма на дыхательный и обратно в зависимости от условий: при наличии кислорода брожение ингибируется и дрожжи начинают дышать, в отсутствие кислорода включается механизм спиртового брожения. Так как кислородное дыхание - энергетически более выгодный процесс, чем брожение, то выход биомассы дрожжей в расчете на единицу используемого субстрата выше при выращивании их в аэробных условиях, чем в анаэробных. Это явление называется **эффектом Пастера**.

Спиртовое брожение может идти не только в анаэробных условиях. Если выращивать дрожжи в присутствии кислорода, но при высоком содержании глюкозы в среде, то в этом случае дрожжи также сбраживают глюкозу. Таким образом, глюкоза подавляет процессы анаэробного дыхания. Это явление получило название **эффекта Кребтри**, или катаболитной репрессии.

Многие дрожжи вообще не способны бродить. По соотношению между этими двумя процессами в метаболизме можно выделить следующие группы дрожжей.

1. Дрожжи, существующие только за счет брожения и не способные расти в аэробных условиях. К ним относится, например, вид *Arxiozyma telluris*, обитающий в кишечном тракте грызунов.

2. Активные бродильщики: интенсивно сбраживают различные субстраты, но в аэробных условиях переключаются на дыхательный обмен. Представители - *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe*.

3. Слабые бродильщики - в основном существуют за счет аэробного дыхания, но в анаэробных условиях могут бродить, однако значительно менее интенсивно, чем виды из предыдущей группы. Это аскомицетовые дрожжи из родов *Pichia*, *Debaryomyces*, а также все способные к брожению базидиомицетовые дрожжи.

4. Дрожжи, существующие только за счет дыхания и не способные расти в анаэробных условиях. К этой группе относятся аскомицетовые дрожжи из рода *Lipomyces* и многие несовершенные дрожжи базидиомицетового аффинитета - *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*.

При росте в анаэробных условиях дрожжи превращают глюкозу в пировиноградную кислоту по гликолитическому пути, получая 2 моля АТФ на 1 моль глюкозы. Процесс гликолиза включает реакцию окисления фосфоглицеринового альдегида, в которой образуется восстановленный пиридиннуклеотид НАД·Н. В аэробных условиях последний окисляется через систему переноса электронов кислородом. В отсутствие же кислорода для сохранения окислительно-восстановительного равновесия необходимо окислить НАД·Н каким-либо другим путем. В дрожжевой клетке это окисление включает декарбоксилирование пирувата и превращение образовавшегося при этом ацетальдегида в этанол с одновременным окислением НАД·Н до $НАД^+$. Образовавшийся $НАД^+$ может принимать участие в окислении следующей молекулы фосфоглицеринового альдегида (рис. 39).

Ход брожения может сильно меняться в зависимости от условий. Если, например, в культуру бродящих дрожжей добавить бисульфит, то образующийся из пирувата ацетальдегид связывается в бисульфитный аддукт, тем самым блокируя образование этанола. Дрожжевые клетки в ответ на это используют для окисления накапливающегося НАД·Н половину образующегося триозофосфата. Последний, восстанавливаясь, превращается в глицерин. Хотя при этом суммарный выход АТФ становится равным нулю, и такое брожение не может обеспечить рост клеток, его можно использовать для промышленного получения глицерина.

В типичном же случае основные продукты спиртового брожения - этанол и углекислота, однако, в микроколичествах образуется также множество побочных соединений.

Субстраты брожения. Все бродящие дрожжи сбраживают глюкозу и фруктозу, поскольку именно с этих сахаров начинается гликолитическое расщепление. Кроме глюкозы и фруктозы могут сбраживаться другие соединения, которые легко превращаются в интермедиаты гликолитического пути. В основном к ним относятся гексозы и олигосахариды, включающие остатки гексоз. Из моносахаридов наиболее часто сбраживается галактоза, из дисахаридов - сахароза, мальтоза, трегалоза. Значительно реже встречаются дрожжи, сбраживающие лактозу и мелибиозу.

Некоторые дрожжи способны также сбраживать полисахариды, состоящие из гексозных остатков. Например *Kluyveromyces fragilis* сбра-

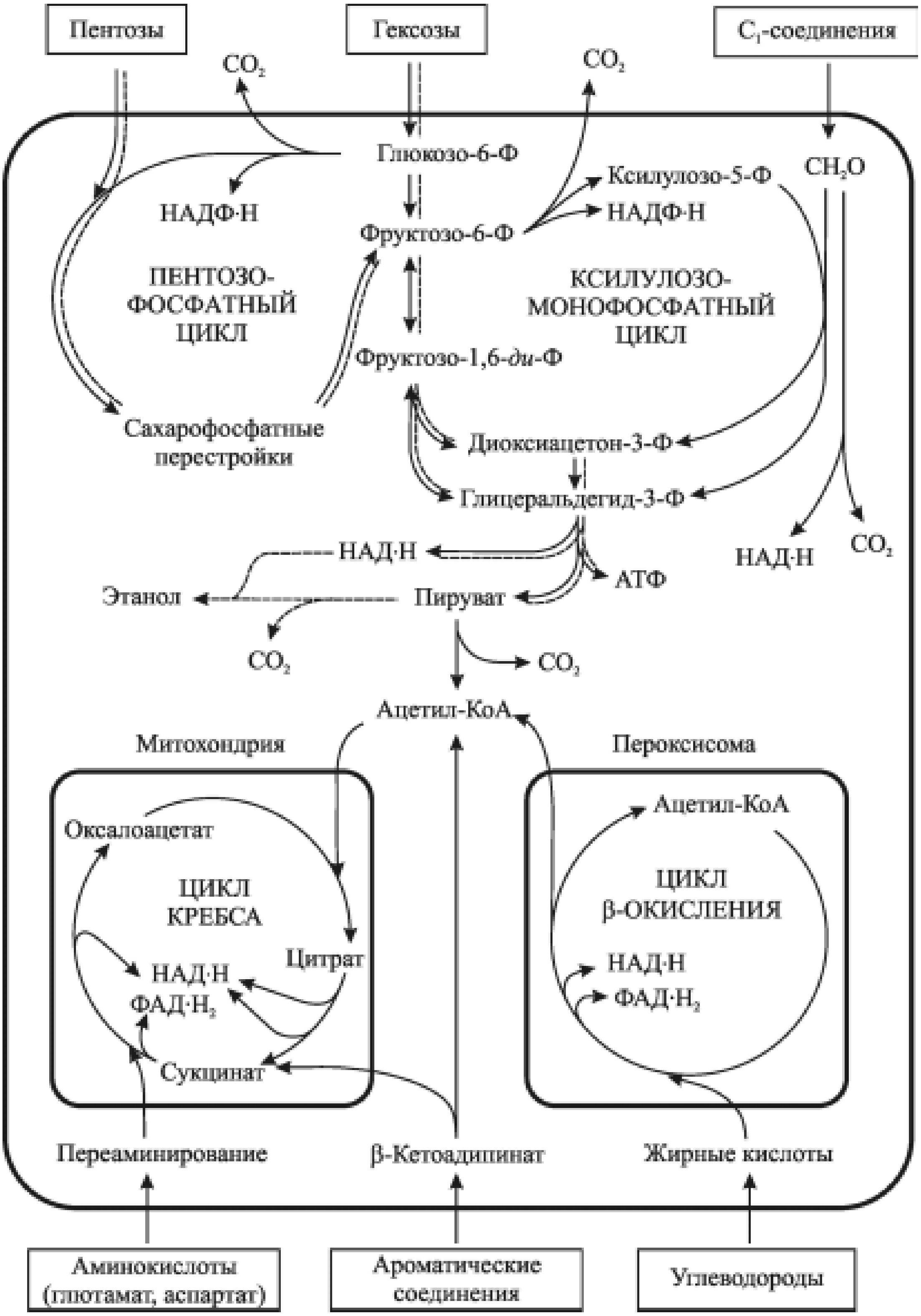


Рис. 39. Пути катаболизма различных типов соединений дрожжами.

живает инулин (полифруктозан), а *Schwanniomyces occidentalis* и *Saccharomycopsis fibuliger* активно сбраживают крахмал.

Долгое время не были известны дрожжи, способные интенсивно сбраживать пентозы. Такие виды были описаны только к началу 80-х годов XX в. К ним относятся, например, *Pichia stipitis* (несовершенная стадия - *Candida shehatae*), *Pachysolen tannophilus*. Брожение ксилозы начинается с восстановления ее до ксилита с помощью фермента ксилозоредуктазы. Затем ксилит окисляется ксилитдегидрогеназой до ксилулозы, которая фосфорилируется с образованием ксилулозо-5-фосфата. Последний может вступать в реакции пентозофосфатного пути, где происходит перестройка углеродного скелета ксилулозо-5-фосфата с образованием интермедиатов гликолиза (см. рис. 39).

Дыхание

При росте в аэробных условиях при низком содержании глюкозы в среде дрожжи получают АТФ за счет процессов дыхания, как это делает большинство аэробных организмов. Полное окисление углеродного субстрата до углекислого газа и воды может происходить у дрожжей с помощью трех различных механизмов: в цикле трикарбоновых кислот, в глиоксилатном цикле и в пентозофосфатном цикле (см. рис. 39). При функционировании каждого из этих циклов в клетке происходит образование восстановленных пиридиннуклеотидов. Они могут быть использованы либо для процессов восстановления в ходе биосинтеза, либо для получения АТФ путем окислительного фосфорилирования. В последнем случае НАД·Н становится донором электронов для электронно-транспортной цепи, в которую у дрожжей входят такие белки-переносчики электронов, как флавопротеиды, убихиноны и цитохромы, локализованные на внутренней мембране митохондрий.

Спектр углеродных соединений, усваиваемых дрожжами за счет аэробного дыхания, значительно шире, чем в случае брожения. Рассмотрим особенности аэробного метаболизма дрожжами некоторых углеродных соединений.

Углеводы. За исключением *Arxiozyma telluris*, обитающего в кишечнике грызунов и неспособного к дыхательному метаболизму, все остальные виды дрожжей растут аэробно на глюкозе. Многие другие гексозы также могут использоваться дрожжами как субстраты дыхания.

Если в анаэробных условиях лишь единичные виды дрожжей могут сбраживать пятиатомные сахара, то в присутствии кислорода пентозы (арабиноза, ксилоза и др.) и метилпентозы (рамноза) могут служить субстратами для очень многих дрожжей. При этом происходит превращение пентоз в соответствующие интермедиаты пентозофосфатного пути.

Многие дрожжи способны также аэробно ассимилировать различные производные сахаров, например сахароспирты (сорбит, рибит, эритрит, маннит, инозит) или гликозиды (арбутин, салицин).

Полисахариды также могут усваиваться дрожжами, способными к синтезу соответствующих гидролаз. Довольно часто встречаются дрожжи, ассимилирующие крахмал. Многие виды дрожжей способны усваивать такие полисахариды, как полифруктозаны (инулин), полигалактоурониды (пектины), гемицеллюлозы (ксиланы). Способность к расщеплению β-глюкозидных связей в целлюлозе у дрожжей практически отсутствует. Целлюлазы обнаружены лишь у нескольких видов дрожжей, например, у *Trichosporon pullulans*, но активность этих ферментов значительно ниже, чем у целлюлолитических мицелиальных грибов, таких как, например, виды рода *Trichoderma*.

Жирные кислоты и н-алканы. Ряд видов дрожжей отличается способностью к аэробному росту на длинноцепочечных жирных кислотах и алканах. К таким дрожжам относятся некоторые виды рода *Candida* аскомицетового аффинитета (*Candida tropicalis*, *Candida intermedia*, *Candida lipolytica*, *Candida guilliermondii*).

Ассимиляция н-алканов может идти только аэробным путем, так как первая стадия их катаболизма - это окисление концевого атома углеводородной цепочки молекулярным кислородом. Образующийся спирт окисляется до соответствующей жирной кислоты, которая затем подвергается процессам β-окисления, отщепляя последовательно двууглеродные остатки ацетил-КоА. Последний окисляется в цикле трикарбоновых кислот или глиоксилатном цикле.

Дрожжи, растущие на средах с н-алканами, имеют специфические цитологические особенности. На ультратонких срезах таких клеток обычно видны органеллы, окруженные гомогенными липопротеидными мембранами - **пероксисомы**. Функция пероксисом состоит в компартментализации процессов β-окисления от дальнейших превращений ацетил-КоА.

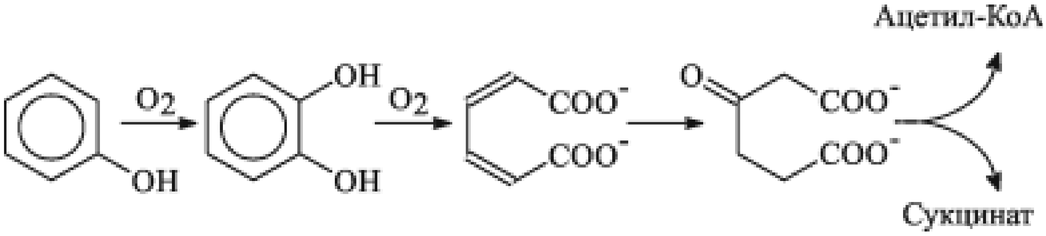
Одноуглеродные соединения. Более 20 видов дрожжей способны аэробно расти на метаноле в качестве единственного источника углерода и энергии. Наиболее активно ассимилируют метанол такие виды, как *Candida boidinii*, *Candida methylica*, *Pichia polymorpha*, *Pichia pastoris*. Все эти виды - факультативные метилотрофы, они хорошо растут также и на углеводах.

Катаболизм метанола дрожжами начинается с его окисления кислородом с образованием формальдегида. Эта реакция катализируется ферментом метанолоксидазой, содержащим в качестве кофермента ФАД. При действии флавиновых оксигеназ образуется H_2O_2, поэтому метилотрофные дрожжи всегда богаты каталазой, разлагающей токсичную H_2O_2 до H_2O и O_2. Формальдегид затем окисляется последовательно до муравьиной кислоты и CO_2. При этом окисляемый субстрат находится в связанном виде с молекулой глутатиона. В ходе окисления на 1 моль метанола образуется 1 моль НАД·Н, который может участвовать в процессах биосинтеза или отдавать электроны в цепь переноса электронов для генерации АТФ.

При росте на метаноле, как на единственном источнике углерода, дрожжи должны использовать только одноуглеродные фрагменты для синтеза всех клеточных компонентов. Ассимиляция одноуглеродных соединений и образование С-С связей у метилотрофных дрожжей идет в ксилулозо-монофосфатном цикле. Ключевая реакция этого цикла - взаимодействие ксилулозо-5-фосфата с формальдегидом и образование фосфоглицеринового альдегида и диоксиацетона - уникальна и встречается только у метилотрофов. Последующие превращения представляют собой обращение реакций гликолитического пути. Регенерация ксилулозо-5-фосфата достигается окислением и декарбоксилированием фруктозо-6-фосфата.

Ароматические соединения. Некоторые дрожжи, в частности *Trichosporon pullulans*, *Debaryomyces hansenii*, способны аэробно ассимилировать ароматические соединения, такие как фенол, резорцин, салициловая кислота и т.п. Большинство дрожжей неспособно ассимилировать в качестве источника углерода гетероциклические соединения, включая пуриновые и пиримидиновые производные. Однако недавно описан новый вид *Arxula adeninivorans*, активно ассимилирующий раз-

личные пуриновые соединения в качестве источника углерода и азота. Катаболизм ароматических соединений у дрожжей идет по β-кето-адипиновому пути и начинается с введения ОН-групп и раскрытия ароматического кольца с помощью оксигеназ:



Хотя дрожжи, использующие сложные ароматические соединения в качестве единственного источника углерода и энергии, встречаются довольно редко, они гораздо чаще могут окислять их в процессах кометаболизма, например в присутствии глюкозы.

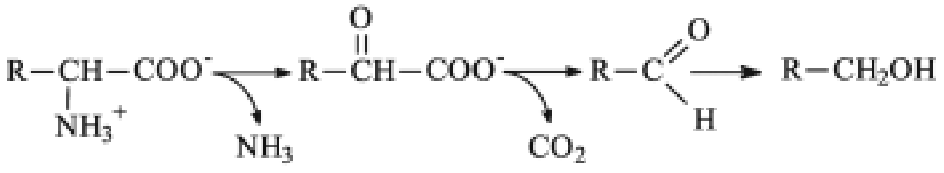
Кроме перечисленных классов соединений дрожжевые грибы часто могут ассимилировать различные органические кислоты, альдегиды, спирты, амины, аминокислоты и пр. Существуют дрожжи, обладающие высокой протеазной активностью и способные расти на белках. К ним относится, например, *Debaryomyces hansenii*, часто развивающийся на консервированных мясных продуктах и колбасах. Большинство базидиомицетовых дрожжей образует также внеклеточные ДНК-азы.

Вторичные продукты метаболизма

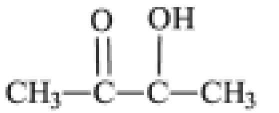
В процессе роста дрожжи наряду с основными продуктами (этанол, CO_2) образуют множество других метаболитов, которые синтезируются как побочные соединения при катаболизме углеводов, обмене аминокислот и пр. Хотя эти соединения обычно накапливаются в культуральной среде в очень незначительных количествах и трудно идентифицируются, они могут иметь большое практическое значение, например, для пищевой промышленности, так как от их состава зависит качество пищевого продукта, получаемого с помощью дрожжей. Такие соединения называют **органолептическими**.

Обязательные побочные продукты метаболизма дрожжей - высшие спирты (сивушные масла). Механизм синтеза высших спиртов связан с образованием алифатических аминокислот (валин, лейцин, изолейцин).

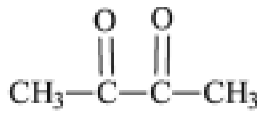
Он включает удаление с аминокислот и их предшественников аминогрупп (трансаминирование), образующаяся аминокислота декарбоксилируется и восстанавливается до спирта:



Чаще всего встречаются спирты: пропиловый, изоамиловый, бутиловый, изобутиловый. Летучие жирные кислоты, такие как уксусная, пропионовая, масляная, изомасляная, изовалериановая - также обычные минорные продукты метаболизма дрожжей. Большое практическое значение имеют выделяемые дрожжами альдегиды и кетоны, особенно ацетоин и диацетил:



Ацетоин



Диацетил

Исходным соединением для синтеза ацетоина и диацетила является пируват. При декарбоксилировании пирувата образуется ацетальдегид, который конденсируется с другой молекулой пирувата с образованием ацетомолочной кислоты. Декарбоксилирование ацетолактата дает ацетоин, обратимо окисляющийся до диацетила. С ацетолактата начинается также путь биосинтеза валина и пантотеновой кислоты, поэтому ацетоин и диацетил считают побочными продуктами синтеза этих соединений. Эти и другие соединения сильно влияют на вкус спиртных напитков - вина и пива.

Среди других побочных продуктов большое значение имеют также длинноцепочечные жирные кислоты, эфиры и меркаптаны.

Источники азота

Универсальным источником азота для дрожжей являются соли аммония. Аммонийный ион, а также аммиак, усваиваются всеми без ис-

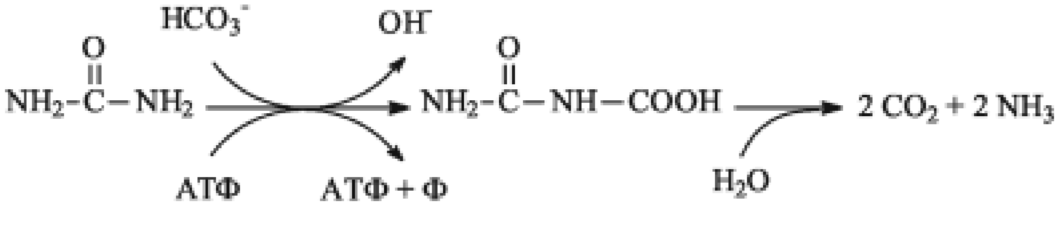
ключения видами дрожжей. Азот аммония включается в метаболизм с помощью реакций аминирования - взаимодействия NH_3 с α-кето-кислотами:

α-Кутоглутарат + NH_3 + НАД·Н + H^+ > Глютамат + $НАД^+$ + H_2O

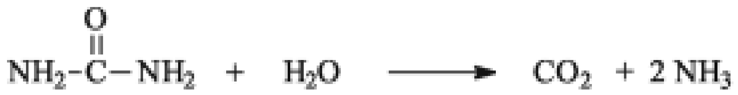
Многие дрожжи способны усваивать азот в окисленной форме - в виде солей нитратов и нитритов. Дрожжи, использующие нитраты, имеют две ферментные системы: первая восстанавливает нитрат до нитрита, вторая - нитрат до аммония. У некоторых видов присутствует только вторая ферментная система - они способны усваивать нитриты, но не нитраты. Способность к ассимиляции нитратов считается ценным таксономическим признаком, поэтому определение способности к росту на среде с KNO_3 в качестве единственного источника азота - рутинный тест при идентификации дрожжей. В последнее время, с развитием геносистематики, тесту на ассимиляцию нитратов стали придавать значительно меньшее значение, как диагностическому признаку.

Источниками азота для дрожжей могут быть также различные органические соединения, содержащие NH - группы: амины, аминокислоты, азотсодержащие гетероциклические соединения. Высвобождение NH_3 из таких соединений может идти различными путями. Первый - окисление аминооксидазами. Второй путь - переаминирование - перенос NH - группы с ассимилируемого субстрата на а-кетокислоту с образованием соответствующей аминокислоты.

Практически все дрожжи используют в качестве источника азота мочевину, расщепляя ее на CO_2 и NH_3. Однако, механизм этого расщепления различен у аскомицетовых и базидиомицетовых дрожжей. Аскомицетовые дрожжи сначала карбоксилируют мочевину с образованием аллофоната, который затем гидролизуется:



Базидиомицетовые дрожжи непосредственно расщепляют мочевину с помощью фермента уреазы. Во этом случае аммиак образуется в избытке и выделяется в среду:



Это дает возможность различать дрожжи аско- и базидиомицетового аффинитета с помощью теста на наличие уреазы: в питательную среду добавляют мочевину и кислотно-основной индикатор (феноловый красный). При наличии уреазы выделяется аммиак, среда подщелачивается и индикатор меняет окраску. Этот простой тест широко используется при видовой идентификации дрожжевых грибов.

ЛИМИТИРУЮЩИЕ ФАКТОРЫ

За исключением нескольких исключительно холодолюбивых видов, среди дрожжей нет ярко выраженных экстремофилов, то есть видов, предпочитающих крайне высокие или низкие значения температуры, pH, осмотического давления, влажности среды и т.п. В то же время существуют дрожжи, которые сильно выделяются среди большинства других видов по своей способности переносить неблагоприятные факторы среды.

Температура. У большинства видов дрожжей минимальная температура роста находится в пределах 0-5°С, а максимальная - 30-40°С. Почти все дрожжи могут расти при комнатной температуре 20-25°С. Базидиомицетовые дрожжи в целом характеризуются более низкими максимальными температурами роста, чем аскомицетовые (рис. 40). Однако из этого правила имеется ряд исключений.

1. Некоторые дрожжи, например *Kluyveromyces thermotolerans*, *Arxiozyma telluris*, *Candida tropicalis*, могут расти при температурах выше 45?С. Однако, минимальная температура роста таких дрожжей также находится в пределах 0-5°С, поэтому их следует называть **термотолерантными**, то есть устойчивыми к повышенным температурам.

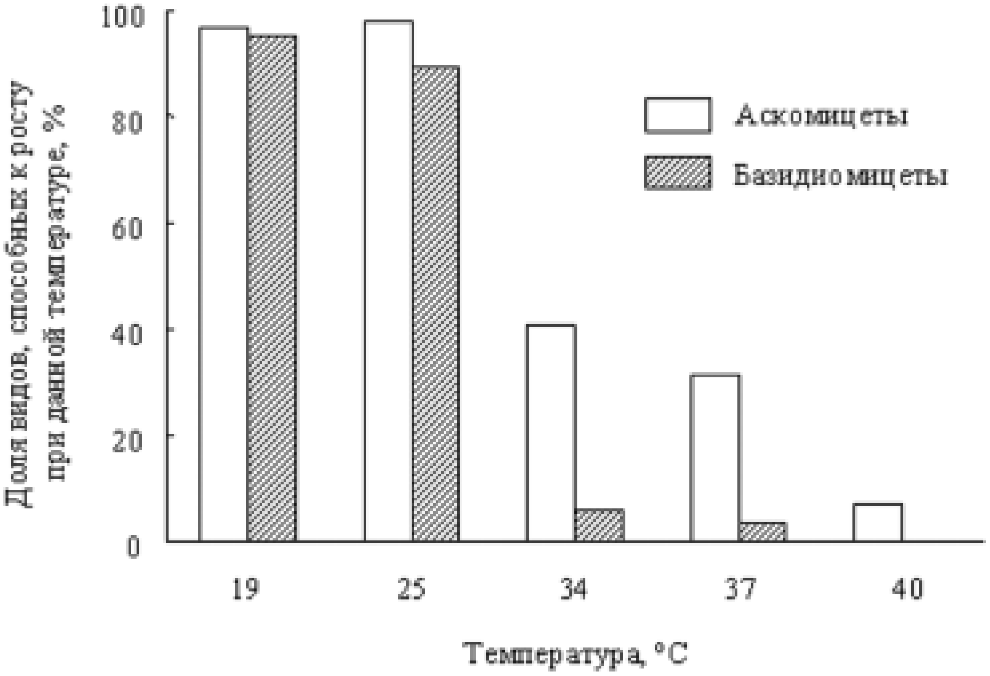


Рис. 40. Относительное количество видов дрожжей с различной максимальной температурой роста.

2. Существует несколько видов дрожжей, обитающих только во внутренних органах теплокровных животных. К таким видам относится, например, *Cyniclomyces guttulatus*, обитающий в кишечном тракте кроликов. Эти дрожжи весь свой жизненный цикл проводят при температуре тела животного-хозяина, поэтому температурный диапазон их роста очень узок, обычно от 30 до 40°С (**психрофобные**).

3. Гораздо чаще встречаются дрожжи, которые хорошо растут при низких температурах около 0°С, а иногда - и при отрицательных температурах. Если максимальная температура роста таких дрожжей не ниже 20-25°С, то они называются холодоустойчивыми, или **психротолерантными**. Наиболее обычны психротолерантные виды среди дрожжей базидиомицетового аффинитета. Если же максимальная температура роста ниже 20°С, то принято говорить о **психрофильных дрожжах**. Облигатные психрофилы встречаются среди штаммов таких видов, как *Leucosporidium scottii*, *Mrakia frigida*. Эти дрожжи часто выделяются в высоких широтах, например, из тундровых почв или из воды антарктических морей. Психрофильные штаммы встречаются также среди несовершенных дрожжей базидиомицетового аффинитета, таких как *Cryptococcus*, *Bullera*, *Sporobolomyces* и др. Среди аскомицетовых дрожжей психрофильные виды не известны.

Таким образом, в целом дрожжи - это довольно холодолюбивая группа микроорганизмов. Часто это дает возможность создать селективные условия при выделении дрожжей из различных субстратов. Дело в том, что учету и выделению дрожжей методом посева на твердых питательных средах сильно мешают мицелиальные грибы, присутствующие в изучаемом субстрате. Колонии грибов маскируют более мелкие дрожжевые колонии и затрудняют их изоляцию. Подобрать какую-либо селективную только на одноклеточные грибы питательную среду, то есть ограничить рост мицелиальных грибов химически невозможно: все ингибиторы роста мицелиальных грибов действуют и на дрожжи. Однако, при выращивании посевов при низкой (около 5°С) температуре дрожжевые колонии в среднем развиваются быстрее. Это дает возможность частично избавиться от колоний мицелиальных грибов.

Активность воды. Активность воды (a_w) в каком-либо растворе определяется как отношение давления пара над раствором к давлению

пара над чистой водой. Для чистой воды a_w =1. Все без исключения дрожжи способны расти при a_w, приближающейся к 1. Большинство видов дрожжей перестает расти при a_w = 0.9. Такую активность воды имеет, например, 50% раствор глюкозы или 14% раствор NaCl. Однако ряд видов дрожжей способен развиваться при концентрации глюкозы в среде до 60% или при концентрации NaCl до 20%. Такие дрожжи называют ксеротолерантными. К ним относятся аскомицетовые дрожжи *Zygosaccharomyces bailii*, *Zygosaccharomyces rouxii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Debaryomyces hansenii* и др. Эти виды часто встречаются в различных вареньях, джемах, сиропах, сухофруктах и могут вызывать порчу этих продуктов. Дрожжи *Debaryomyces hansenii* особенно устойчивы к высокой концентрации NaCl в среде и часто встречаются в различных соленьях, на консервированных мясных продуктах, в морской воде.

Механизм устойчивости ксеротолерантных дрожжей к низким значениям a_w заключается в изменении внутриклеточной среды. Клетки этих дрожжей способны накапливать различные полиолы, такие как глицерин, арабит, эритрит, ксилит, которые могут служить растворителями для внутриклеточных ферментов вместо воды. Ксеротолерантные дрожжи могут быть использованы для промышленного получения таких полиолов, которые представляют интерес для химической (глицерин) и пищевой (ксилит) промышленности.

Кислотность среды. Оптимальные значения pH для роста большинства дрожжевых грибов находятся в области средней кислотности (pH 4-6). Однако отдельные виды способны развиваться в более кислой среде. Например, некоторые штаммы *Saccharomyces cerevisiae* хорошо растут при pH 2.5-3. К кислотоустойчивым дрожжам относится также обитающий в кишечном тракте животных *Cyniclomyces guttulatus*, растущий при pH 2. Дрожжи, которые могли бы расти при щелочных значениях pH (8 и более) не известны.

Практически все виды дрожжей могут расти в диапазоне pH 4-4.5. В то же время, в такой слабокислой среде не растет большинство банальных бактерий, которые наиболее обычны в самых разных природных местообитаниях (например, псевдомонады, бациллы, коринеподобные бактерии, актиномицеты). На этом основан простейший метод селективного выделения дрожжей: питательная среда (например, сусло-агар)

подкисляется HCl или молочной кислотой до pH 4-4,5. В большинстве случаев на такой среде вырастают только дрожжи и быстрорастущие мицелиальные грибы.

Ингибиторы роста. Рост дрожжей подавляется многими антибиотиками актиномицетного и грибного происхождения с разным механизмом действия. Наиболее известны из них следующие (рис. 41).

Циклогексимид (актидион) подавляет синтез цитоплазматического белка на полирибосомном уровне. Чувствительность к этому антибиотику у разных дрожжей сильно варьирует, и признак устойчивости к нему используется в таксономии дрожжей для дифференциации видов. Например *Saccharomyces cerevisiae* и родственные виды полностью ингибируются при концентрации циклогексимида всего несколько мг/л, а липомицеты, большинство видов *Kluyveromyces*, апикулятные дрожжи *Kloeckera-Hanseniaspora* резистентны к этому соединению и могут расти при его концентрации до 100 мг/л.

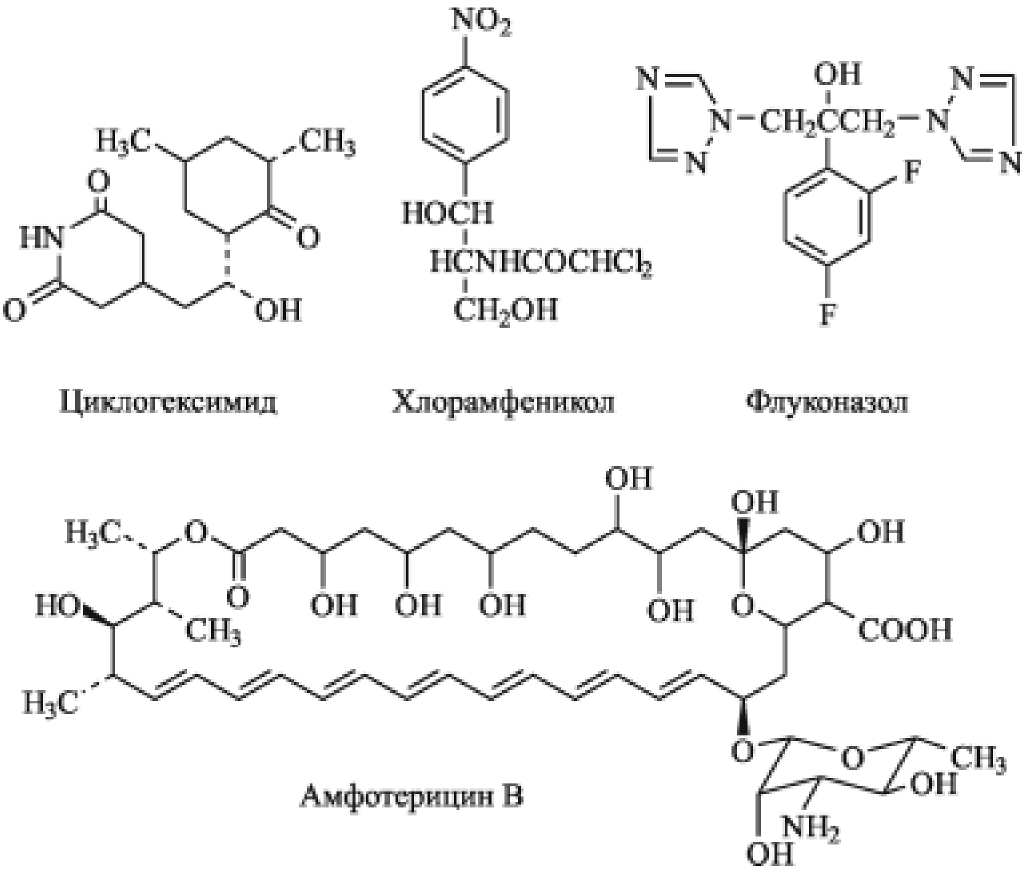


Рис. 41. Примеры наиболее известных антимикотиков, ингибирующих рост дрожжей.

Хлорамфеникол ингибирует синтез митохондриальных белков, но не оказывает действия на белковый синтез в цитоплазме. Высокая концентрация глюкозы обеспечивает рост *Saccharomyces cerevisiae* в присутствии хлорамфеникола за счет брожения, но при снижении концентрации глюкозы рост прекращается, так как образовавшийся ацетил-КоА не включается в метаболизм из-за неспособности дрожжей синтезировать ферменты цикла Кребса в митохондриях.

Туникамицин селективно блокирует синтез и секрецию маннан-протеинового комплекса клеточной стенки и маннан-содержащих ферментов (инвертазы, фосфатазы). Рост *Saccharomyces cerevisiae* подавляется слабо, но клетки становятся очень чувствительными к действию литических ферментов.

В качестве эффективных ингибиторов роста грибов хорошо известны полиеновые антибиотики, состоящие из циклической липофильной и более подвижной гидрофильной частей. Они подавляют рост грибов и дрожжей, но не прокариот. Действие их проявляется в образовании прочного комплекса с цитоплазматической мембраной, что приводит к изменению ее проницаемости и вытеканию многих цитоплазматических компонентов. Приобретение устойчивости к полиеновым антибиотикам сопровождается изменениями в составе стеринов и жирных кислот. Наиболее известные примеры полиеновых антибиотиков - нистатин, амфотерицин. Сходное действие оказывают некоторые соединения из группы азолов, например флуконазол. Эти соединения широко используются при лечении заболеваний, вызываемых некоторыми видами дрожжей, таких как кандидоз и криптококкоз (см. стр. 115-117).

Киллерный эффект у дрожжей. Киллерный эффект был впервые обнаружен у *Saccharomyces cerevisiae* Макоуром и Беваном в 1963 г. Киллерные дрожжи выделяют токсин, к которому они сами устойчивы, но который летален для других - чувствительных штаммов. Киллерные штаммы были обнаружены сначала у дрожжей из родов *Saccharomyces*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia*, а позже у базидиомицетовых дрожжей и их анаморф.

Для определения киллерной активности штамм дрожжей высевается штрихом на поверхность твердой питательной среды, на которую (или в которую) нанесен газон чувствительного штамма. Штамм считается киллерным, если штрих оказывается окруженным чистой зоной, в кото-

рой отсутствует рост чувствительного штамма, то есть принцип метода - тот же, что и при определении антибиотической активности.

Генетические анализы киллер-эффекта у лабораторных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* показали, что расщепление по этому признаку отличается от менделевского. Более того, для передачи киллерного признака достаточно одного процесса плазмогамии без слияния ядер. Это указывает на то, что киллерный фенотип кодируется внеядерными генетическими элементами (плазмидами). Анализ бесклеточных экстрактов киллерных дрожжей на присутствие плазмид, ответственных за киллерный эффект, обнаружил два типа двунитевой РНК (днРНК): более тяжелая была обозначена L, более легкая - M.

Далее было показано, что именно M днРНК определяет киллерный фенотип: у некиллерных штаммов M днРНК отсутствует, киллерные штаммы после инкубации при повышенных температурах или обработки циклогексимидом теряют и M днРНК, и киллерную активность. Однако, для экспрессии киллерного фенотипа необходимо присутствие как M, так и L днРНК: последняя необходима для поддержания первой. Дело в том, что как M, так и L днРНК окружены белковой оболочкой, то есть представляют собой вирусоподобные частицы (ВПЧ). Если M днРНК ответственна за образование киллерного токсина, то L днРНК кодирует капсидный белок для обоих типов частиц. Так как ВПЧ не проявляют литического цикла, их относят к латентным вирусам. Такие вирусы найдены у многих грибов.

Только у одного штамма другого вида дрожжей - *Kluyveromyces lactis* (штамм IFO 1267) - были найдены киллерные плазмиды совершенно другого типа, относящиеся к ДНК плазмидам. Все остальные изученные киллерные штаммы дрожжей *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Pichia* не обнаруживали никаких плазмид. Киллерная активность наследуется у них менделевским путем, ингибируется циклогексимидом, то есть кодируется ядерными генами.

Киллерные токсины всех изученных дрожжей представляют собой пептиды или гликопептиды. Лучше других изучен токсин из *Saccharomyces cerevisiae*. Он состоит из двух полипептидных компонентов: α и β, которые связаны дисульфидными связями.

Киллерные токсины секретируются в экспоненциальной фазе. Сначала в клетке образуется протоксин, который гликозилируется для эф-

фективного транспорта. Затем гликозилированный токсин переносится в систему Гольджи и включается в секреторные везикулы. В системе Гольджи происходит расщепление протоксина на α и β компоненты, которые соединяются дисульфидными связями. Это приводит к активированию токсина, который секретируется при слиянии везикул с цитоплазматической мембраной. Третий - γ-компонент протоксина (сайт гликозилирования) остается в мембране и обуславливает иммунность к секретируемому токсину.

Механизм действия киллерного токсина заключается в связывании его клеточной стенкой чувствительного штамма. Рецептором является β (1→6)-глюкан. Сферопласты дрожжей, однако, также чувствительны к киллерному токсину, то есть существует также и второй рецептор в мембране. Токсин повреждает цитоплазматическую мембрану путем образования пор, что приводит к свободному прохождению ионов через мембрану, а значит к дисбалансу в ионном составе клетки и блокировке работы протонного насоса. Таким образом последовательность событий при действии киллерного токсина на клетку такова: связывание токсина с β-глюканом - связывание с рецептором на мембране - образование пор - изменение электрохимического потенциала клетки из-за утечки ионов калия - гибель клетки.

Киллерные дрожжи интенсивно изучаются в последнее время в связи с перспективами их практического использования. В бродильной промышленности, при приготовлении вина, пива, часто происходит заражение бродящего сусла так называемыми «дикими» дрожжами, которые изменяют ход брожения в нежелательную сторону. Использование киллерных штаммов *Saccharomyces cerevisiae* для сбраживания исключает развитие диких дрожжей - киллерный токсин будет попросту подавлять их рост. Сходные проблемы возникают во всех других видах дрожжевых производств, где используются чистые культуры. Применение киллерных токсинов дрожжей перспективно также в медицине в качестве противодрожжевых и противогрибных антибиотиков.

Киллерные токсины обладают избирательным, видоспецифическим действием, поэтому определение устойчивости или чувствительности к различным токсинам используется в систематике дрожжей в качестве важного таксономического признака при дифференциации видов.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ В ПРИРОДЕ

Особенности распространения дрожжей в природе стали интересовать микробиологов начиная с самых первых исследований процессов традиционного виноделия. Первоначально изучение дрожжей ограничивалось теми видами и штаммами, которые вызывали брожение при приготовлении пива и вина. Однако уже в конце XIX в. М.Бейеринк высказывал мысль о том, что эти культурные виды представляют собой селекционированные формы «диких» дрожжей, широко распространенных в природе. Естественно, возник вопрос об источниках их попадания в бродящие субстраты. Первые исследования, выполненные основателями зимологии Э.Хансеном и А.Клекером, были посвящены именно этой теме: поиску природных источников винных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. В нашей стране этому вопросу также уделяли внимание крупнейшие микробиологи, например Г.А.Надсон. Сахаромицеты были найдены на ягодах винограда, однако, как оказалось, преобладают здесь совсем иные виды дрожжей, не участвующие в последующем сбраживании виноградного сока. Еще реже встречались сахаромицеты в окружающих субстратах, в частности, в почве под виноградниками. Уже в ранних работах высказывалось предположение, что почва не является средой, в которой возможно активное развитие дрожжевых грибов, а служит для последних лишь своеобразной «ловушкой», где дрожжи могут сохраняться определенное время в жизнеспособном состоянии и служить источником спор для инфицирования винограда нового урожая. Таким образом возникло понятие «круговорота дрожжей» в природе. Под «дрожжами» в то время подразумевались одноклеточные аскомицетовые грибы, родственные сахаромицетам и способные к активному брожению.

Расширяющиеся микологические исследования приводили к обнаружению все новых видов дрожжевых грибов, в том числе и таких, которые существенно отличались от типичных сахаромицетов. Оказалось, что многие из одноклеточных грибов, выделяемых из природных источников, не образовывали аскоспор и вообще не были способны к сбраживанию сахаров. Для таких дрожжей был предложен род *Torula*, давший затем начало целой серии родов несовершенных дрожжей (*Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula*, *Cryptococcus*), виды которых часто обнаруживаются в самых различных природных субстратах, включая почву, расте-

ния, разнообразные растительные остатки и природные воды. Стало понятным, что дрожжи распространены довольно широко, и их развитие далеко не ограничивается субстратами традиционных бродильных процессов. Однако, при этом существенно изменилось и содержание самого понятия «дрожжи». Дрожжами стали называть любые одноклеточные грибы, не обязательно вызывающие спиртовое брожение. В то же время, несмотря на существенные отличия между сахаромицетами и небродящими дрожжевыми грибами, достаточно долго сохранялось представление о дрожжах как самостоятельной филогенетической линии грибов. Лишь после обнаружения у несовершенных дрожжей рода *Rhodotorula* полного жизненного цикла, типичного для телиоспоровых гетеробазидиомицетов, термин «дрожжи» окончательно утратил таксономическое содержание. Тем не менее, вплоть до настоящего времени дрожжи продолжают рассматриваться в качестве единой группы, представляющей собой особую жизненную форму, или экоморфу грибов.

Дело в том, что все дрожжи обладают очень сходным обликом за счет роста преимущественно в виде одиночных клеток. Кроме того, с одноклеточной организацией дрожжей сопряжены многие их физиологические особенности, в частности узкий спектр усваиваемых соединений, отсутствие способности к гидролизу труднодоступных полимеров, особенно таких, как целлюлоза и лигнин, быстрый рост за счет потребления простых углеводов. Особенно характерен этот набор признаков для аскомицетовых дрожжей. Все это делает их более приспособленными к обитанию в жидких и мелкодисперсных средах, богатых легкодоступными источниками углерода, в то время как мицелиальные грибы получают преимущество при росте на плотных поверхностях. Одноклеточность у грибов - вторичное явление в их эволюции, которое возникало независимо в разных группах аско- и базидиомицетов как реакция на существование в жидких и полужидких средах с относительно высокой концентрацией легкодоступных источников питания.

Действительно, дрожжи - наиболее типичные обитатели природных субстратов, характеризующихся высоким содержанием легкодоступных питательных веществ (сахаров, сахароспиртов, органических кислот и т.п.). В таких субстратах популяции отдельных видов дрожжей могут достигать очень высоких значений численности и даже доминировать в

микробном населении. Многие из подобных природных местообитаний неоднократно привлекали внимание зимологов и служили источниками выделения самых различных видов дрожжей. Рассмотрим примеры таких местообитаний более подробно.

Специфические локусы развития дрожжей

Виноград и другие сочные плоды. Вскоре после открытия Пастером дрожжевой природы спиртового брожения было показано, что дрожжи постоянно обитают на поверхности ягод винограда и других сладких плодов. С этого времени было проведено множество исследований дрожжевого населения винограда и всех технологических стадий виноделия. Было установлено, что на свежих ягодах винограда, а также в только что приготовленном виноградном соке обычно доминируют дрожжи аскомицетового аффинитета *Kloeckera apiculata* (телеоморфа - *Hanseniaspora uvarum*), образующие лимоновидные клетки в результате биполярного почкования и неспособные к росту при повышенной концентрации этанола. Наряду с этим с ягод винограда выделяется много других видов дрожжей, как аскомицетового, так и базидиомицетового аффинитета. Однако в забродившем соке все эти дрожжи быстро вытесняются устойчивыми к этанолу, активно бродящими и быстрорастущими дрожжами *Saccharomyces cerevisiae*. На свежих ягодах винограда сахаромицеты также обнаруживаются, но редко. Основным источником сахаромицетов в процессах традиционного виноделия являются предметы оборудования винодельческих предприятий. Таким образом, *S. cerevisiae* - это чисто синантропный вид, предковые формы которого, тем не менее, сохраняются в природных очагах.

На других сладких плодах различных растений в разных географических регионах также постоянно присутствуют дрожжи, численность которых многократно увеличивается по мере порчи (забраживания) плодов. Как правило, с плодов выделяются как типичные эпифитные виды, обычные и на других частях растений, так и способные к брожению виды аскомицетового аффинитета, среди которых также обычны представители рода *Kloeckera*.

Для дрожжей, часто способных питаться только простыми углеводами в высокой концентрации, важным условием успешного развития яв-

ляется своевременное попадание клеток на поврежденный плод. Поэтому особую роль в инфицировании высокосахаристых плодов аскомицетовыми дрожжами играют различные насекомые, питающиеся плодами или откладывающие в них свои яйца. Такие насекомые могут переносить дрожжевые клетки с одного плода на другой. При этом дрожжи, развивающиеся в плодах, могут даже служить для насекомых дополнительным источником питания.

Нектароносные цветки и насекомые-опылители. Цветочный нектар может содержать сахара в концентрации до 20%, а также аминокислоты, органические кислоты, минеральные соли, представляя собой идеальную среду для развития дрожжей. Действительно, из цветков энтомофильных растений всегда выделяются дрожжи, среди которых можно обнаружить как типичные эпифитные виды, постоянно присутствующие и на других частях растений, так и специализированные формы. По-видимому, так же как и в случае сочных плодов, появление последних в значительной степени зависит от успешного инфицирования, за которое могут быть ответственны насекомые - опылители. Действительно, одни и те же виды дрожжей обнаруживаются как в нектароносных цветках, так и на их опылителях, в частности пчелах. Дрожжи, обитающие в цветочном нектаре, весьма разнообразны и представлены родами *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Candida*, *Pichia*, *Hanseniaspora*, *Debaryomyces*, *Metschnikowia* и др.

Однако наиболее характерно развитие в цветочном нектаре аскомицетовых дрожжей *Metschnikowia reukaufii*. Эти дрожжи имеют давнюю историю изучения и впервые были обнаружены в самом начале XX века при прямой микроскопии нектара, где были видны характерные крестовидные дрожжевые клетки (рис. 42). Однако при выделении организма в чистую культуру эти клетки исчезали. Высказывалось предположение, что подобная морфология способствует переносу дрожжей насекомыми-опылителями. Организм был назван *Anthomyces reukaufii* (цветочный гриб). В 20-х гг. эти дрожжи были подробно изучены Г.А.Надсоном и Н.А.Красильниковым, а позже, после обнаружения у него сумчатой стадии, переописан как *Metschnikowia reukaufii*. Последующие исследования показали, что эти дрожжи выделяются не только из цветочного нектара, но и с поверхности других частей растений, а также из других

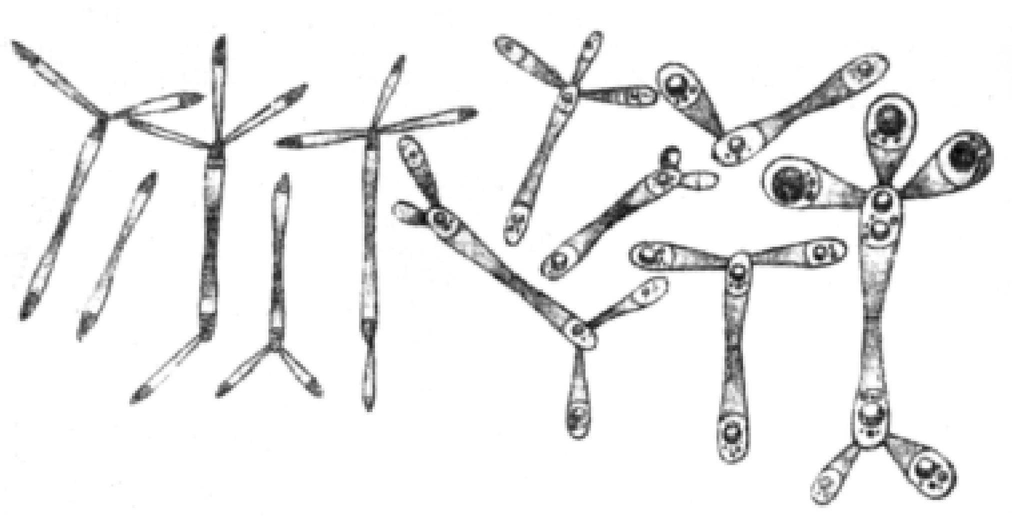


Рис. 42. Крестовидные клетки Metschnikowia reukaufii в цветочном нектаре. Рисунок Г.А.Надсона.

субстратов, включая растительные остатки и верхние горизонты почв. Тем не менее вероятность их обнаружения на цветках энтомофильных растений значительно выше, чем на других частях растений. Характерно, что этот же вид наиболее часто обнаруживается на насекомых, опыляющих нектароносные цветки.

Сокотечения деревьев. Сокотечения, или весенний плач деревьев - это вытекание флоэмного сока из повреждений на стволе, например, у таких деревьев, как береза, клен, дуб и др. Выделяющийся сок со временем обильно заселяется микроорганизмами, среди которых преобладают бактерии и дрожжи. Такой забродивший сок привлекает многих насекомых, которые используют его в качестве питательного субстрата и служат эффективным средством переноса дрожжей на свежие субстраты.

Дрожжевые сообщества, формирующиеся в бродящих сокотечениях деревьев, весьма разнообразны и включают как типичные эпифитные виды, постоянно обнаруживающиеся на листьях, коре деревьев и в лесных подстилках, так и виды аскомицетового аффинитета, как правило способные к брожению. Среди последних имеется несколько специфических форм, все известные выделения которых были сделаны исключительно из сокотечений, например, *Arthroascus javanensis*, *Nadsonia elongata*, ряд представителей рода *Pichia*. Только из сокотечений были выделены базидиомицетовые красные бродящие дрожжи *Phaffia rhodozyma*.

Изучение дрожжевых сообществ, развивающихся в сокотечениях деревьев, представляется очень перспективным для развития самых разных аспектов микробной экологии. Эти сообщества проходят ряд сукцессионных стадий со сменой доминирующих видов, что делает их удобной и простой моделью для изучения общих закономерностей экологических сукцессий. Сокотечения представляют собой как бы природный аналог хемостата, что дает возможность моделировать их в лабораторных условиях. Очень интересны перспективы исследования механизмов переноса дрожжей насекомыми, питающимися на сокотечениях. Широкое распространение деревьев, у которых встречается раневое истекание флоэмного сока, делает возможным изучение роли географического положения в формировании дрожжевых сообществ сокотечений. Однако подробное изучение всех этих вопросов - дело будущего.

Разлагающиеся ткани кактусов. Один из наиболее подробно исследованных примеров специфических дрожжевых сообществ - ассоциации дрожжей и дрозофил в разлагающихся тканях кактусов в пустынях Нового Света. Формирование этих сообществ начинается в результате локальных механических повреждений тканей кактуса, которые облегчают развитие в месте повреждения пектолитических бактерий, разрушающих наружные покровы растения. Позже в таком локусе обильно развиваются дрожжи. Многие насекомые, среди которых преобладают различные виды дрозофил, используют загнившие ткани кактусов как места кормления, значительно способствуя при этом инфицированию их дрожжами, привнесенными из соседних локусов. Личинки дрозофил развиваются в гниющих тканях, используя дрожжи в качестве источника белка, витаминов и стеролов. Таким образом формируется, поддерживается и коэволюционирует довольно сложная симбиотическая система, включающая растение, различные виды бактерий, дрожжей и насекомых.

Детальные многолетние исследования этих локусов обнаружили десятки видов дрожжей, большинство из которых относились к роду *Pichia* и *Candida*. Среди них был описан ряд новых видов, в частности *Pichia cactophila*, *P. amethionina*, *P. opuntiae* и др., которые оказались специфичными именно для этих местообитаний и не были выделены из других источников. Была обнаружена тесная связь между таксономическим составом дрожжевых сообществ и филогенетическим и географическим

расстоянием между кактусами, что свидетельствует об их коэволюционном развитии. Важно подчеркнуть, что эти местообитания также представляют собой локальное повышение концентрации легкодоступных источников углерода, что в формировании их также активное участие принимают насекомые, и что здесь также доминируют типичные сахаролитические дрожжи аскомицетового аффинитета.

Дрожжи в буровой муке насекомых-ксилофагов. Жизнедеятельность дереворазрушающих насекомых тесно связана с широким кругом различных микроорганизмов, среди которых дрожжи занимают значительное место. В кишечнике многих ксилофагов, проложенных ими галереях и личиночных камерах, в измельченной древесине (буровой муке) постоянно присутствуют дрожжи и дрожжеподобные грибы аскомицетового аффинитета. Описаны десятки видов дрожжей в основном из родов *Candida*, *Pichia*, *Ambrosiozyma*, которые были выделены исключительно из буровой муки и насекомых-ксилофагов.

Ассоциации дрожжей и дереворазрушающих насекомых можно разделить на два типа. К первому относятся симбиотические ассоциации, в которых дрожжи развиваются в мицетомах стенок кишечника насекомых. Наличие таких дрожжевых симбионтов было установлено у многих жуков-ксилофагов из семейств *Ipinae* (короеды), *Cerambycidae* (усачи). Функция дрожжей заключается в снабжении насекомых витаминами и другими важными ростовыми веществами. При этом потеря симбионта сопровождается нарушением роста насекомых и процесса их метаморфоза.

Другой тип взаимоотношений, более факультативный, - развитие дрожжей в буровой муке, на экскрементах и других продуктах жизнедеятельности насекомых. Личинки насекомых-ксилофагов прогрызают ходы в древесине (рис. 43), образуя буровую муку - измельченную, частично переваренную древесину. На этой буровой муке и поселяются различные виды микроорганизмов, в том числе и дрожжи. Дрожжи, растущие на буровой муке, также служат источником белка и витаминов в питании ксилофагов. Видовой состав дрожжей в буровой муке очень специфичен, так как в древесине присутствуют соединения, ограничивающие рост большинства микроорганизмов (терпены, эфирные масла и пр.). Они представлены большой группой видов аскомицетовых дрожжей из родов

Рис. 43. Ходы насекомых-ксилофагов в древесине – характерное местообитание многих видов аскомицетовых дрожжей.

Pichia, *Ambrosiozyma*, *Saccharomycopsis* или их анаморфами (*Candida* spp.). Все эти дрожжи - типичные сахаролитики. Как правило, они способны к брожению, обладают довольно узким спектром усваиваемых соединений, не способны к интенсивному гидролизу труднодоступных полимеров (целлюлозы). Их развитие на древесной буровой муке становится возможным лишь в результате интенсивного гидролиза измельченной ксилофагами древесины, вызываемого целлюлолитическими бактериями и мицелиальными грибами. Высвобождающиеся низкомолекулярные продукты гидролиза и обусловливают развитие сахаролитических дрожжей.

Кишечный тракт беспозвоночных животных. Приведенные выше примеры типичных местообитаний дрожжевых грибов объединяет одна интересная особенность: тем или иным образом в их формировании участвуют беспозвоночные животные. Более того, в кишечниках самых разных беспозвоночных также часто присутствуют дрожжи, среди которых есть как случайные, так и симбиотические формы, сопутствующие животному на протяжении всей его жизни. Такие дрожжи входят в состав сложных микробных ассоциаций, формирующихся в кишечном тракте беспозвоночных и играющих важную роль в их питании. Кроме упомянутых выше насекомых-ксилофагов такие симбиотические дрожжи были обнаружены в кишечниках многих ризо- и сапрофагов, например, кивсяков, мокриц, личинок пластинчатоусых жуков (бронзовка, майский жук), личинок жуков-щелкунов. Дрожжи, обитающие в кишечниках сапрофа-

гов, представлены разными аскоспоровыми родами, такими как *Debaryomyces*, *Williopsis*, *Torulaspora*, а также анаморфами из рода *Candida*. Если лабораторные культуры таких животных долгое время кормить стерильным кормом, то в одних случаях дрожжи из их кишечника исчезают, в других, например у кивсяков (рис. 44), продолжают

Рис. 44. Судьба дрожжей в пищеварительном тракте кивсяка Pachyiulus flavipes; дрожжи: 1 – экзогенные, поступающие с пищей, 2 – автохтонные кишечные (Debaryomyces, Torulaspora, Williopsis), 3 – лизированные.

существовать неограниченно долго. Таким образом, можно говорить как о факультативных ассоциациях (протокооперативных), при которых дрожжи постоянно поступают в кишечник беспозвоночного с кормом, так и об облигатных (мутуалистических), когда дрожжи постоянно обитают в кишечном тракте беспозвоночного и способны поддерживать в нем постоянную численность за счет размножения. В обоих случаях дрожжи могут играть важную роль в питании сапрофагов, например, снабжая их необходимыми факторами роста, или регулировать химический состав кишечника. Сами дрожжи, очевидно, ассимилируют сахара, образующиеся при гидролизе полисахаридов бактериями, входящими в состав кишечного микробного сообщества.

Дрожжевые грибы постоянно обнаруживаются также в кишечниках и экскрементах различных беспозвоночных, питающихся зелеными частями растений (фитофагов), например, многих представителей равнокрылых, клопов, трипсов, жуков, гусениц бабочек и перепончатокрылых и др. Среди таких дрожжей обычны виды, которые постоянно обитают на поверхности надземных частей растений, но особенно характерны представители рода *Metschnikowia*, особенно упомянутые выше виды *M. reukaufii* и *M. pulcherrima*, обитающие в растительном нектаре. Очень богатые и многочисленные дрожжевые сообщества могут формироваться на поверхности листьев растений, пораженных насекомыми из группы сосущих фитофагов (тли). Обильное развитие последних вызывает накопление сахаристых выделений на поверхности листьев, т.н. «медвяной росы». Численность дрожжей на листьях, густо покрытых тлями и обильной медвяной росой, уже через несколько дней становится на 2-3 порядка выше, чем на свежих частях растений. При этом численность *M. pulcherrima* может достигать 10^6 КОЕ/г, в то время как на листьях без медвяной росы обычно не превышает 10^3 КОЕ/г. Кроме представителей рода *Metschnikowia* в субстратах, ассоциированных с зеленоядными беспозвоночными, часто обнаруживаются и другие виды аскомицетовых дрожжей из родов *Candida*, *Debaryomyces*.

Итак, наиболее обильно дрожжи развиваются в природных местообитаниях, как правило, локальных и недолговечных, в которых происходит накопление легкодоступных источников питания - простых сахаров, органических кислот и др. Аналогом таких природных сообществ

может служить интенсивное развитие одной популяции сахаромицетов при сбраживании виноградного сока в традиционном виноделии. Непосредственной причиной этого является высвобождение большого количества сахаров при раздавливании ягод винограда. При этом преимущество получают именно быстрорастущие сахаромицеты, способные к быстрому, «взрывному» росту за счет малоэффективного бродильного метаболизма. В природе часто можно наблюдать похожие явления, когда растительные сахара в высокой концентрации становятся доступными для утилизации дрожжевыми грибами. Вот примеры механизмов такого локального повышения концентрации сахаров:

- накопление сахаров самим растением (нектар, сочные плоды);
- истечение флоэмного сока через раневые повреждения (сокотечения деревьев);
- разрушение и измельчение растительного материала фитофагами (дрожжевые сообщества в кишечниках и экскрементах растительноядных насекомых);
- накопление сахаров на поверхности растений в результате деятельности сосущих насекомых (медвяная роса);
- высвобождение легкодоступных сахаров в результате интенсивного гидролиза растительных полимеров грибами и бактериями (буровая мука ксилофагов).

Как видно, возникновение подобных местообитаний в основном сопряжено с локальными разрушениями растительных тканей, которые приводят к высвобождению содержимого клеток. Подобные явления довольно часто вызывают различные беспозвоночные: фитофаги, ксилофаги, микофаги. Этим и объясняется наблюдаемая связь аскомицетовых дрожжей и беспозвоночных животных. В ряде случаев могут возникать устойчивые коэволюционные ассоциации между определенными видами дрожжей и беспозвоночных, например, в гниющих тканях кактусов или в галереях ксилофагов. Однако чаще участвующие в таких ассоциациях виды дрожжей постоянно выделяются и из других типов субстратов.

Большинство местообитаний с высоким содержанием сахаров очень недолговечно. Существенную роль в образовании таких «взрывных» сахаролитических дрожжевых группировок должен играть случайный фактор. Так же как в традиционном виноделии постоянно существует веро-

ятность развития «диких» дрожжей, которая снижается добавлением культурной расы, развитие того или иного вида дрожжевых грибов в отдельном высокосахаристом природном субстрате зависит от успешного первоначального инфицирования. Здесь проявляется еще одна важная роль беспозвоночных животных в формировании дрожжевых сообществ, а именно направленное и эффективное инфицирование дрожжами таких локальных и в основном недолговременных местообитаний. Беспозвоночные в этом случае выступают просто в качестве переносчиков дрожжей между сахаросодержащими локусами. В экологии такой тип взаимоотношений, когда один вид использует другого в качестве переносчика, называется **форезией**.

Известные варианты дрожжевых сообществ, формирующихся в высокосахаристых субстратах, весьма разнообразны и далеко не исчерпываются рассмотренными выше примерами. Поиск таких специфических природных локусов развития дрожжей является интереснейшим и во многих отношениях (таксономическом, экологическом, биотехнологическом) и перспективным направлением микробной экологии. Подобные дрожжевые сообщества могут представлять собой прекрасные модели для изучения функциональной экологии, механизмов межвидовых взаимодействий и процессов коэволюции.

Дрожжи на растениях, растительных остатках и в почве

Распространение дрожжей в природе не ограничивается только локальными и недолговечными местообитаниями с высоким содержанием сахаров. Их можно выделить практически из любых природных сред, включая верхние и более глубокие почвенные горизонты, поверхность растений, растительные остатки, природные воды, воздух. Обычно численность дрожжей в большинстве таких местообитаний невысока и часто лежит на пределе чувствительности методов их учета. Роль дрожжей здесь значительно ниже по сравнению с ролью мицелиальных грибов и бактерий за исключением, может быть, живых частей растений. Многие виды аскомицетовых дрожжей, интенсивно развивающиеся в специфических сахаросодержащих субстратах, спорадически выделяются также из почв и с поверхности растений. Тем не менее, известны десятки видов дрожжевых грибов, для которых почвы, растения и растительные

остатки являются основным местообитанием. Многие из таких видов представляют собой дрожжеподобные грибы базидиомицетового аффинитета, для цикла развития которых характерны дрожжевая анаморфная и мицелиальная телеоморфная стадии. Сахаролитическая стратегия у таких дрожжей выражена слабее, чем у представителей порядка *Saccharomycetales*. За немногими исключениями базидиомицетовые дрожжи не способны бродить и в среднем усваивают более широкий спектр соединений. Приуроченность таких дрожжей к местообитаниям с высоким содержанием свободных сахаров выражена слабее. Среди них много космополитических эвритопных видов, которые с одинаковой вероятностью выделяются из многих субстратов в различных географических зонах. Методом посева из природных субстратов эти виды, среди которых много гетероталличных, чаще выделяются в виде дрожжевых анаморф. Не исключено, что телеоморфная стадия у некоторых таких видов вообще утеряна в ходе эволюции. Типичными примерами таких банальных форм служат анаморфные виды *Cryptococcus albidus*, *C. laurentii*, *Trichosporon pullulans*, *Sporobolomyces roseus*.

Эпифитные дрожжи. Надземные части растений почти всегда заселены эпифитными микроорганизмами, среди которых значительную часть составляют дрожжи. Обнаружить их можно, например, сделав отпечатки листьев на поверхности питательной среды (рис. 45). Численность дрожжей на зеленых листьях растений обычно колеблется в пределах 10^3-10^5 КОЕ/г, но может достигать 10^7 КОЕ/г. На листьях некоторых тро-

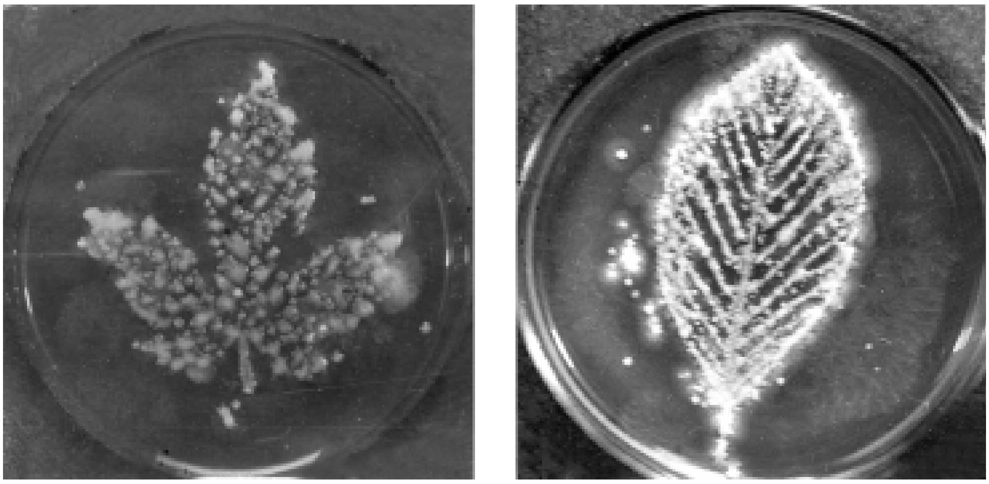


Рис. 45. Колонии дрожжей, выросших на месте отпечатков листьев на поверхности сусло-агара.

пических растений дрожжи иногда могут развиваться в таком количестве, что образуют налет, заметный даже невооруженным глазом. Эти дрожжи - не паразиты растений, а комменсалы, «нахлебники». Единственный постоянный источник питания таких эпифитных дрожжей - прижизненные выделения растений, т.н. экссудаты, в состав которых входят глюкоза, фруктоза, сахароза, в меньшем количестве трегалоза, галактоза, органические кислоты. Многие дрожжи способны также утилизировать липиды листовой кутикулы, гемицеллюлозы, а в качестве азотсодержащих соединений - белки, аминокислоты, нуклеиновые кислоты. Выделяемые клетками эпифитных дрожжей экстрацеллюлярные полимеры позволяют им достаточно прочно адгезироваться на поверхности листьев. Имеются сведения о том, что развивающиеся на растениях дрожжи, так же как и большинство фитопатогенных грибов, могут вести эндофитный образ жизни, то есть растут не на поверхности листьев, а в межклеточном пространстве и внутри тканей листа.

Многие виды дрожжей особенно часто выделяются с поверхности растений и при этом имеют специфические морфологические и физиологические особенности, свидетельствующие об их приспособленности к существованию именно в этом типе местообитания. К таким особенностям относятся выраженная каротиноидная пигментация, защищающая клетки от солнечной радиации, образование активно отстреливающихся баллистоспор, рассеивающихся воздухом, формирование полисахаридных капсул, способствующих адгезии и предохраняющих клетки от высыхания. Дрожжи с таким сочетанием свойств относятся к экоморфологической группе **фитобионтов**. Наиболее типичные представители фитобионтов - анаморфные виды базидиомицетового аффинитета *Sporobolomyces roseus*, *Rhodotorula glutinis*.

Видовой состав дрожжей на листьях растений варьирует в широких пределах. Однако мало что известно о специфичности дрожжевых сообществ у разных видов растений. Четкие различия обнаруживаются только в том случае, если сами растения произрастают в сильно различающихся условиях или относятся к разным экологическим группам. Например, численность и разнообразие дрожжей в среднем выше на листьях мезофитов, чем на листьях суккулентных и склерофитных форм, у которых ограничены процессы транспирации и экссудации. Еще один

фактор, влияющий на плотность заселения дрожжами надземных частей растений - густота растительного покрова. В местах с сильно разреженным растительным покровом средняя плотность дрожжей несколько снижается, по-видимому, из-за недостатка «посевного материала». Существенно различаются также дрожжевые группировки, формирующиеся на древесных (одревесневшие ветви, поверхность коры) и хлорофиллоносных (листья деревьев, травы) частях растений. Последние значительно богаче как по численности, так и по таксономическому разнообразию населяющих их дрожжевых грибов.

Численность и видовой состав дрожжей на листьях растений существенно изменяются во времени. При этом динамика эпифитного дрожжевого населения определяется сочетанием трех групп факторов:

1) погодно-климатическими факторами, определяющими ключевые экологические параметры среды, такие как температура, влажность, интенсивность солнечной радиации и т.п.;

2) фенологическими ритмами растений, с которыми связаны интенсивность выделения и химический состав экссудатов, служащих основным источником питания для эпифитных микроорганизмов, а также выделение растением стимуляторов и ингибиторов роста микроорганизмов;

3) биологическими ритмами в жизнедеятельности беспозвоночных животных, ассоциированных с растением, прежде всего фитофагов и опылителей; эти ритмы в свою очередь взаимосвязаны как с погодными условиями, так и с фенологическими изменениями и особенностями онтогенеза растений.

Как правило, численность дрожжевых грибов заметно повышается при отмирании надземных частей растений. На отмирающих и мертвых, но находящихся на корню неодревесневших частях растений, численность дрожжей может достигать 10^7-10^8 КОЕ/г. Однако, как правило, на этой стадии не происходит существенных перестроек таксономической структуры дрожжевого сообщества и по большинству параметров дрожжевые сообщества на мертвых надземных частях растений мало чем отличаются от типичных эпифитных сообществ.

Растительные остатки. Другой тип природных местообитаний, в которых всегда присутствуют дрожжи - это всевозможные варианты растительных остатков, теряющих черты своего анатомического строения

и находящихся на различных стадиях деструкции. В разных биогеоценозах это могут быть лесные подстилки, торфянистые горизонты, луговая дернина, степной войлок и т.п. Плотность заселения дрожжами таких субстратов несколько ниже, чем надземных частей растений и в среднем составляет 10^3-10^4 КОЕ/г.

Следует заметить, что изучение дрожжевых сообществ растительных остатков методом посева наиболее затруднено. Лесные подстилки обычно густо населены мицелиальными грибами, в том числе быстрорастущими, такими как *Mucor* или *Penicillium*. Обильное развитие этих грибов в посевах сильно мешает учету дрожжевых колоний.

Как правило, видовой состав дрожжей в разлагающихся растительных остатках не сильно отличается от того, что можно обнаружить на живых и мертвых надземных частях растений в этом же биогеоценозе. Обычно здесь преобладают все те же типичные фитобионтные виды. Особенно это характерно для свежих растительных остатков, сформировавшихся за относительно короткое время (прошлогодний опад, растительные остатки, образовавшиеся в ходе быстрых сукцессий при разложении несклеротизированных частей растений). В сильноразложившихся растительных остатках (нижние слои лесной подстилки) структура дрожжевого населения существенно перестраивается. Доступность необходимых для дрожжевых грибов свободных сахаров или органических кислот здесь существенно снижена. Поэтому в таких местообитаниях дрожжевые группировки приобретают более «экстремальные» черты: сокращается число обнаруживаемых видов, доминанты становятся более выраженными. В подстилках высокую роль начинают играть виды базидиомицетового аффинитета, которые обладают характерным комплексом морфо-физиологических свойств, свидетельствующих об их адаптированности именно к этому типу местообитаний. Впрочем, отнесение этих видов к дрожжам достаточно условно: наряду с дрожжевыми клетками для них характерно обильное развитие истинного мицелия. От большинства видов дрожжей они отличаются высокой гидролитической активностью и способны к ассимиляции многих полисахаридов и других полимеров. Такие виды объединяют в особую экоморфологическую группу **сапробионтов**, к их наиболее типичным представителям относятся *Trichosporon pullulans* и *Cystofilobasidium capitatum*, особенно характерные для лесных подстилок.

Почва. Среди огромного разнообразия микроорганизмов, населяющих различные горизонты почв, обычно присутствуют и дрожжи. В то же время, численность дрожжей в почве невелика, часто она лежит на пределе чувствительности метода посева и редко превышает 10^3 КОЕ/г. Главным фактором, определяющим развитие дрожжей в почве, является концентрация легкодоступного органического вещества. Во всех типах почв численность дрожжей резко падает с глубиной и наиболее заселенным является верхний 1-5 см слой, непосредственно под подстилкой или слоем растительного опада. В отдельных почвенных образцах дрожжи удается обнаружить далеко не всегда: в среднем по всем типам почв приблизительно в 70% случаев в органогенных горизонтах, и лишь в 20-50% в горизонтах типа B. Особенно редко выделяются дрожжи из глубоких горизонтов BC и C, глеевых горизонтов G, горизонтов с высоким содержанием легкорастворимых солей. В наиболее бедных минеральных горизонтах дрожжи, по-видимому, вообще могут существовать только на фрагментах растительных остатков. Например, в поверхностных слоях серо-бурых пустынных почв и такыров, тундровых пятен, надмерзлотных горизонтов тундровых глеевых почв дрожжи удается выделить только из микрообразцов растительных фрагментов, присутствующих в почвенной массе. Понятно, что вероятность обнаружить дрожжи в таких почвах значительно выше на участках с более высоким покрытием растительностью.

Другим важным фактором, с которым связано развитие дрожжей в минеральных горизонтах почв, является величина pH. Дрожжи наиболее обильны в кислых почвах, таких как тундровые глеевые, подзолистые, бурые лесные, и крайне малочисленны в сухо-степных и пустынных почвах с нейтральной и особенно щелочной реакцией среды, то есть в каштановых, черноземах, серо-бурых пустынных, сероземах, солончаках. Не исключено, что это просто следствие методических ограничений. В большинстве почвенно-зимологических исследований дрожжи выделяют на сусло-агаре, подкисленном до pH 4-4.5 (для ограничения роста бактерий). При кислых значениях pH среды виды, предпочитающие нейтральные или щелочные значения, могут не вырастать. Однако, истинных алкалофильных видов дрожжей до сих пор не известно, хотя многие исследователи используют другие методы ограничения роста

бактерий, без подкисления (антибиотики). Кислотолюбивость дрожжевых грибов вполне может быть связана с их сахаролитической стратегией, так как рост при избытке углеводов, как правило, сопровождается образованием и накоплением в среде органических кислот.

Очень многие виды дрожжей, обнаруживаемые на растениях и растительных остатках, могут быть выделены и из почвы. В верхних горизонтах обычны типичные фито- и сапробионты, изредка встречаются аскомицетовые дрожжи, характерные для рассмотренных выше местообитаний с высокой концентрацией свободных сахаров. Эти виды составляют группу **аллохтонных** почвенных дрожжей. Они попадают в почву с опадом, переносятся беспозвоночными животными. Почва для них не является истинным местом обитания, а лишь «ловушкой», местом сохранения или постепенного отмирания. В то же время, нельзя исключить и возможности некоторого их развития здесь, а, следовательно, определенной роли в функционировании почвенного микробного комплекса, особенно в органогенных горизонтах и микролокусах с высоким содержанием легкодоступных элементов питания.

Аллохтонные дрожжи могут быть ассоциированы с корнями растений или существовать на мертвых растительных остатках, выступая спутниками организмов-гидролитиков. Многие из видов этой группы - типичные эпифиты, постоянно обитающие на поверхности зеленых частей растений. Они не погибают при смене местообитания, но переходят в другую жизненную форму, проявляя мицелиально-дрожжевой диморфизм не только в морфологическом плане, но и изменяя свои жизненные функции. Наиболее яркий пример таких организмов - вид «черные дрожжей» *Aureobasidium pullulans*, одинаково широко распространенный и как эпифит на листьях, и как компонент грибного населения лесных подстилок и верхних горизонтов почвы. На листьях дрожжевые популяции этого вида выступают типичными эпифитами-эккрисотрофами, в почве же они растут в мицелиальной форме, проявляя себя как активные гидролитики, разлагающие пектины, гемицеллюлозы и клетчатку.

Однако существуют и **автохтонные** почвенные дрожжи, то есть те, которые проводят в почве весь жизненный цикл, и для которых минеральные горизонты почв являются наиболее естественным местообитанием. Такими истинно почвенными дрожжами являются все виды рода .

Они представляют собой специфическую группу аскомицетовых грибов и настолько отличаются от остальных дрожжей по своим экофизиологическим характеристикам, что не учитываются обычными методами посева на сахаросодержащие среды, включая сусло-агар. Впервые эти дрожжи были обнаружены в 1940-х гг. американским микробиологом Р.Старки, который проводил наблюдения за ростом азотобактера методом обрастания почвенных комочков (рис. 46) на безазотистой среде Эшби и, оставив чашки на более длительный срок, чем обычно, увидел, что спустя 20 суток вокруг комочков почвы обильно развиваются слизистые дрожжи. Из-за большого количества жира в клетках они были названы впоследствии липомицетами и под родовым названием *Lipomyces* впервые включены в определитель дрожжей в 1952 г.

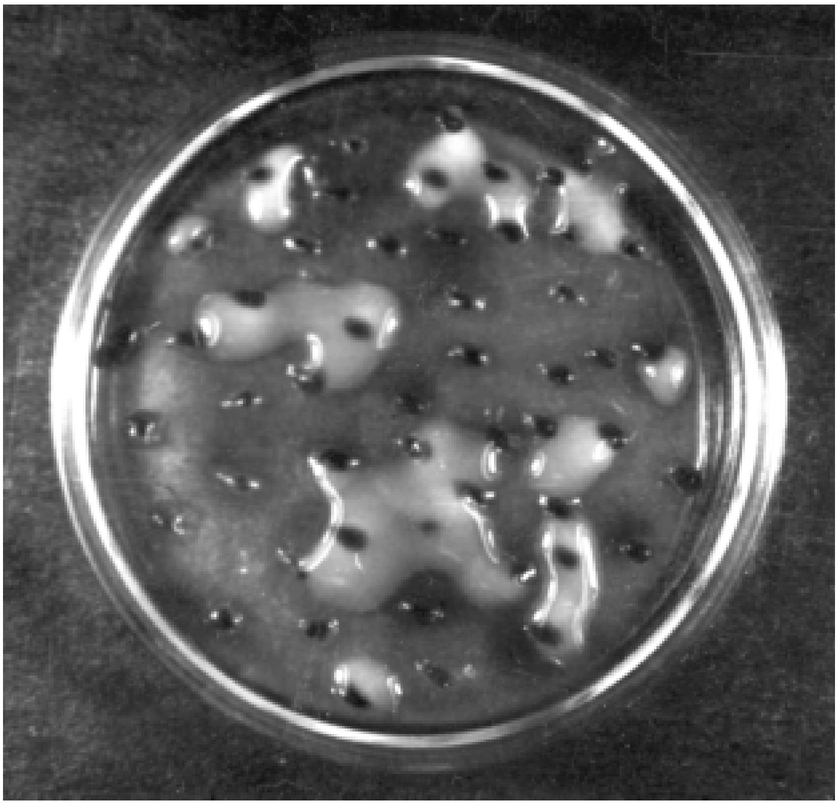


Рис. 46. Учет липомицетов методом обрастания почвенных комочков на среде Эшби.

На плотных средах липомицеты растут, как правило, в виде растекающихся слизистых колоний. Это связано с интенсивным образованием полисахаридных капсул, толщина которых может в два раза превышать

диаметр клетки. Микроморфологически липомицеты довольно легко дифференцируются от всех других дрожжей. Они имеют крупные клетки до 10 мкм и более в диаметре, которые в старых культурах заполняются жиром и превращаются в хламидоспоры. Половой цикл липомицетов, описанный выше, обычно включает копуляцию двух почек на одной материнской клетке, в результате чего образуются характерные мешковидные аски.

Липомицеты - типичные **педобионты**, относящиеся к автохтонной группировке почвенной биоты. Об этом свидетельствует ряд показателей. Во-первых, эти дрожжи выделяются из разных почв постоянно и не обнаруживаются в других субстратах, смежных с почвой, откуда они могли бы приноситься в почву. Во-вторых, численность липомицетов и их распределение по профилю почв соответствует физико-химическому и биологическому режиму конкретного почвообразовательного процесса. Изменение численности в течение года происходит в соответствии с гидротермическими условиями каждого периода и менее связано со стадиями вегетации растений. В-третьих, у липомицетов имеются некоторые особенности морфологии, физиологии, ростовых процессов и биохимии, которые могут служить доказательством прямой адаптации этих организмов к почвенной среде обитания. Все известные виды липомицетов - дрожжи с окислительным типом обмена, не способные к спиртовому брожению. Они характеризуются высокоэффективным метаболизмом при относительно низкой удельной скорости роста и низкими тратами на поддержание, используют широкий спектр источников углерода, в том числе полимеров (инулин, крахмал), ауксоавтотрофы. Липомицеты характеризуются способностью к росту при очень низкой концентрации азота в среде, что дает возможность выделять их на безазотистых средах, используемых для учета азотфиксаторов. Стратегия их существования в минеральных горизонтах почв направлена прежде всего на совершенствование механизмов переживания, чему способствует как эффективное потребление источников углерода и азота, так и способность к накоплению больших запасов питательных веществ в виде внутриклеточных липидов и внеклеточных полисахаридных капсул. Их можно отнести к экологической группе патиентов, или стрессотолерантов, т.е. организмов, подверженных L-отбору (отбору в неблагоприятной обстановке).

Липомицеты распространены очень широко. Эти дрожжи находили на всех материках кроме Антарктиды. Наиболее детально изучено распространение липомицетов в почвах на территории России и бывших республик СССР. В северном полушарии липомицеты распространены вплоть до лесотундры и не встречаются лишь в тундрах и высокогорьях. Липомицеты практически отсутствуют и в зоне пустынь, если не считать редкие случаи их обнаружения в оазисах, в искусственно орошаемых почвах.

Отдельные виды рода *Lipomyces* ассоциированы с разными группами почв. *L. anomalus* (=*Babjevia anomala*) был выделен только один раз из торфянисто-подзолистой глееватой почвы северной тайги в Коми АССР. Это северная граница распространения липомицетов, которая проходит в зоне лесотундры. В подзонах средней и южной тайги обычен вид *L. starkeyi*, которому сопутствует *L. lipofer* (=*Waltomyces lipofer*), более тяготеющий к влажным заболоченным почвам зоны умеренного климата и почвам лугового типа в горных районах. В степной зоне, в черноземах и каштановых почвах, регулярно и в высокой численности встречается единственный вид *L. tetrasporus*. В красноземах субтропиков на территории Кавказа, а также в тропических почвах других стран (Нигерия, Мали, Тринидад и Тобаго, Вьетнам) распространен самый южный вид липомицетов - *L. kononenkoae*. Интересно, что в условиях засушливого климата саваноидных пустынь эти дрожжи «уходят под защиту» распространенных там термитов: популяции *L. kononenkoae* можно найти только в локальных участках почв непосредственно под термитниками.

В горных районах распространение липомицетов повторяет в определенной мере картину, которая складывается при исследовании равнинных территорий. В примитивных почвах высокогорий эти дрожжи отсутствуют, в луговом (субнивальном) и лесном поясах они представлены *L. starkeyi* в горных системах европейской части и *L. lipofer* - в азиатской. В степных и лугово-степных почвах низкогорий и предгорий распространен *L. tetrasporus*.

В интразональных и пахотных почвах эти зональные закономерности в распространении липомицетов несколько нарушаются. По поймам рек популяции отдельных видов липомицетов могут заходить в несвойственные им зоны. В болотных и торфяно-глеевых почвах на территории

Русской Равнины содержание липомицетов невысокое, частота встречаемости низкая. В этих почвах обнаруживаются только многоспоровые липомицеты *L. lipofer* и *L. starkeyi*. В окультуренных почвах отмечается «смешение» разных видов, например *L. starkeyi* и *L. kononenkoae* выделяются вместе из красноземов под чайными плантациями, в пахотных черноземах можно обнаружить сразу три вида - *L. lipofer*, *L. tetrasporus* и *L. starkeyi*.

Таким образом, липомицеты в основном ассоциированы с наиболее зрелыми и плодородными почвами. Они не встречаются там, где почвообразовательный процесс находится на ранней стадии развития, где почвы маломощные, что имеет место в тундрах и высокогорьях. Максимальной плотности липомицеты достигают в заселении почв лесостепи и луговых степей. В мощной толще черноземов липомицеты распространяются на большую глубину и иногда составляют доминирующую часть активной микрофлоры в нижних горизонтах этих почв. В лесной полосе распространение липомицетов по почвенному профилю не соответствует вертикально-профильному распределению других дрожжей. Если основная масса дрожжей в лесных почвах сосредоточена в подстилках, то липомицеты, наоборот, имеют максимум в гумусовом и минеральных горизонтах.

Из экологических факторов наиболее четкое влияние на развитие липомицетов оказывает влажность. Изменение численности этих дрожжей в почве строго следует за колебаниями влажности. Лабораторные опыты по наблюдению за поведением искусственно внесенных в стерильную почву популяций липомицетов (*L tetrasporus* в чернозем и *L. starkeyi* в дерново-подзолистую почву) показали, что переходу к спорообразованию препятствует высокая концентрация доступного источника углерода (глюкоза), низкая температура (5-10°C) и переувлажнение почвы.

Функции липомицетов в почве многогранны. В трофических цепях эти дрожжи выступают как важное звено в питании беспозвоночных. В колониях липомицетов, обрастающих комочки почвы, постоянно можно наблюдать массовое развитие амеб, часто попадаются также нематоды и клещи. Амебы переваривают клеточную стенку и содержимое клеток, за исключением липидных глобул, которые экскретируются и накапливаются в среде. Не перевариваются амебами также и споры липомицетов.

В процессах деструкции растительных остатков в лесных почвах роль липомицетов, по-видимому, невелика из-за слабой их конкурентоспособности по сравнению с быстрорастущими грибами. Об этом свидетельствует и отмеченное выше их распределение по профилю лесных почв: плотность заселения липомицетами подстилок значительно ниже, чем минеральных почвенных горизонтов. Способность липомицетов к гидролизу некоторых полисахаридов позволяет предположить их возможное участие в разложении этих полимеров. Таким образом, липомицеты следует рассматривать не как главных членов, а как спутников тех микроорганизмов, которые в основном осуществляют процесс деструкции растительных остатков. Липомицеты включаются в разложение органических остатков лишь на поздних стадиях этого процесса, протекающего в почвенной толще под травянистыми растительными формациями.

Многие функции липомицетов в почве связаны с их способностью синтезировать и экскретировать полисахариды, создающие вязкую межклеточную среду с высокой гигроскопичностью. Эта среда обеспечивает особый режим питания и влагообмена самих клеток-продуцентов, а также их спутников, среди которых могут быть и азотфиксирующие бактерии. Последние более активно связывают молекулярный азот в ассоциациях с липомицетами, нежели в чистых культурах. При этом внеклеточные полисахариды липомицетов служат бактериям источником углерода, а часть связанного азота становится доступной и для дрожжей. Колонии липомицетов в почве служат, возможно, центрами формирования микросообществ, в состав которых входят и микроорганизмы, лизирующие мертвые и живые клетки этих дрожжей. Внеклеточные полисахариды могут быть факторами повышения водопрочности почвенных агрегатов, участвуя в создании и стабилизации структуры почвы. Взаимодействуя с катионами почвенных минералов, кислые дрожжевые полисахариды способствуют прочному связыванию адсорбированных клеток и почвенных частиц между собой.

Что касается других видов дрожжей, то среди них нет ни одного, который бы, подобно липомицетам, выделялся исключительно из почв и не встречался бы на растениях и растительных остатках. В то же время три анаморфных вида базидиомицетового аффинитета, относящихся к

роду *Cryptococcus*, встречаются в органогенных и минеральных горизонтах почв значительно чаще, чем в других типах субстратов. Это виды *C. aerius*, *C. terreus* и *C. terricola*. Интересно, что для всех этих видов характерны те же микроморфологические черты, что и для липомицетов, а именно интенсивное накопление в шаровидных клетках внутриклеточных липидов в виде крупных глобул при росте на богатых средах, образование толстых полисахаридных капсул. Исходя из всех этих особенностей морфологии и распространения эти виды объединяются вместе с представителями рода *Lipomyces* в экоморфологическую группу педобионтных дрожжей.

Смена дрожжевых сообществ при разложении растительных остатков. Итак, обычными наземными местообитаниями дрожжей являются растения, растительные остатки и почвы. Хотя численность дрожжей в таких местообитаниях существенно ниже, чем в высокосахаристых локусах, они являются постоянным компонентом их микробного населения. Эти субстраты можно рассматривать в достаточно естественной последовательности (живые части растений → мертвые части растений → растительные остатки → органогенные горизонты почв → минеральные горизонты почв), соответствующей слоям вертикальной стратификации биогеоценоза или стадиям сукцессии при разложении растительных остатков. Поэтому их называют **пространственно-сукцессионным рядом**. В этом ряду закономерно уменьшается концентрация легкодоступных источников питания, в первую очередь свободных сахаров, поэтому для дрожжей, как типичных сахаролитиков, среда обитания становится все более неблагоприятной. В пространственно-сукцессионном ряду в структуре дрожжевых сообществ происходят следующие изменения (рис. 47):

- уменьшается общая численность дрожжей, в среднем от 10^4-10^5 КОЕ/г на зеленых листьях растений (иногда с некоторым увеличением на стадии отмирания листьев) до 10^2-10^3 КОЕ/г в почве;

- снижается видовое разнообразие дрожжей (его можно измерить, например, средним числом видов, которое удается выделить из отдельного образца стандартного объема, или общим количеством видов в заданной выборке образцов);

- все более выраженным становится доминирование одного вида: если на живых частях растений на долю самого обильного вида приходится

обычно не более половины общей численности дрожжей, то в почве - до 90% и более;

- дрожжевое население становится все более единообразным, т.е. отдельные образцы растений, взятые в разных местах или в разные сроки, значительно больше отличаются друг от друга по видовому составу дрожжей, чем образцы почвы.

Все эти изменения действительно свидетельствуют о том, что в ходе сукцессии при разложении растительных остатков среда обитания для дрожжей становится все более неблагоприятной. Они вполне аналогичны тем изменениям в структуре растительности и животного населения, которые происходят при перемещении в области климатического пессимума, например, при переходе от бореальных лесов к высокоширотной Арктике или от равнин к высокогорьям. Таким образом, пространственно-сукцессионный ряд следует рассматривать как важный экологический градиент в распределении дрожжевых грибов в природе.

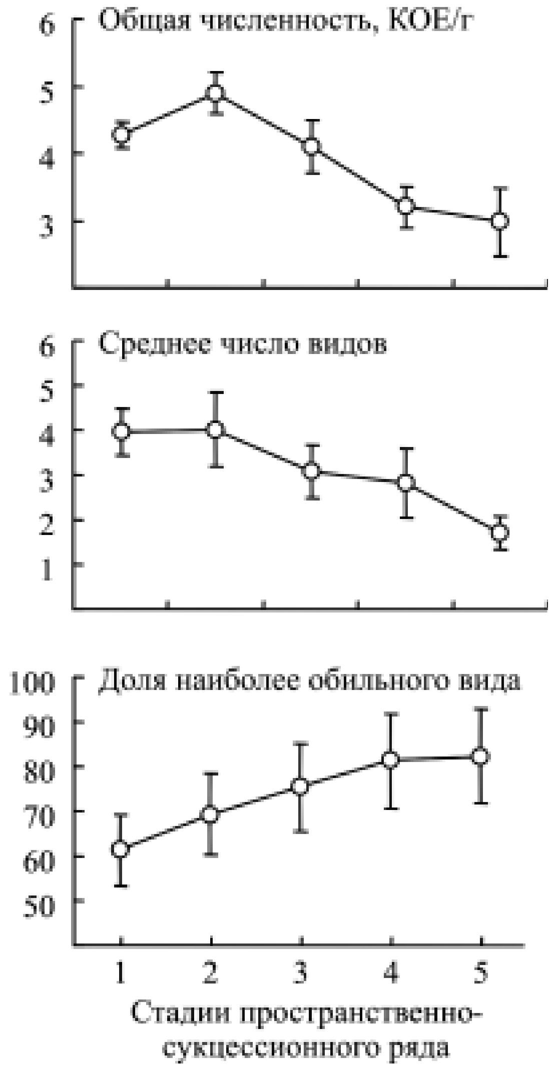


Рис. 47. Изменение дрожжевых сообществ в пространственно-сукцессионном ряду: 1 - живые надземные части растений, 2 - мертвые надземные части растений, 3 - разлагающиеся растительные остатки, 4 - органогенные горизонты почв, 5 - глубокие минеральные горизонты почв.

Географические закономерности в распространении дрожжей

Микроорганизмы обычно считают космополитами. Мельчайшие размеры позволяют им неограниченно расселяться и находить благоприятные микрозоны в любой достаточно гетерогенной среде, в среднем характеризующейся неподходящими условиями для данного вида. Вместе с тем, особенности распространения организмов зависят и от

климатических условий, которые закономерно изменяются по географической широте. Вопрос о наличии таких широтно-зональных закономерностей в распространении микроорганизмов был в центре внимания особого направления в отечественной микробиологии, получившего название «эколого-географического». В первую очередь оно связано с именем академика Е.Н.Мишустина, которому в 30-50-х гг. XX в. впервые удалось продемонстрировать широтно-зональные изменения таксономического состава почвенных бацилл. Эти работы привлекли внимание многих микробиологов к вопросу о широтно-зональных закономерностях в распределении микроорганизмов. Спустя несколько десятилетий самой изученной группой в этом отношении оказались дрожжевые грибы благодаря относительной простоте их учета и невысокому видовому разнообразию.

Таксономическая структура дрожжевых сообществ не просто изменяется в зональном ряду, но эти изменения носят вполне закономерный характер. Численность и разнообразие дрожжей, обилие отдельных видов монотонно возрастают или убывают в значительном диапазоне широт или при анализе их зависимости от такого показателя, как температура самого теплого месяца в году. Все эти зависимости соответствуют идее экологического оптимума, причем эти оптимумы различны для разных видов. По приуроченности к различным природным зонам среди дрожжей выделяются виды арктические (*Cryptococcus gilvescens*), аркто-бореальные (*Cryptococcus laurentii*), бореальные (*Cryptococcus podzolicus*), пустынно-степные (*Cryptococcus diffluens*). Природные зоны существенно различаются по таксономической структуре дрожжевых сообществ в субстратах пространственно-сукцессионного ряда.

Тундра. В пределах тундровой зоны дрожжи наиболее подробно исследованы в различных районах Таймырского полуострова. Сообщества дрожжевых грибов в тундре представлены двумя весьма различными комплексами: довольно разнообразным эпифитным комплексом, который формируется на зеленых и мертвых надземных частях растений, и более однородным подстилочно-почвенным комплексом на разлагающихся частях растений и в почвенных горизонтах. Автохтонные почвенные дрожжи в тундровой зоне отсутствуют.

На листьях тундровых растений дрожжи достигают довольно высокой численности - до 10^5-10^6 КОЕ/г. Для этой зоны характерна высокая доля дрожжей среди других эпифитных микроорганизмов. Очень часто дрожжи являются единственными представителями грибов, населяющих филлосферу.

Эпифитные дрожжи в тундре характеризуются довольно постоянным составом доминирующих видов. На живых и мертвых частях растений обычно преобладает *Cryptococcus laurentii*. Как правило, его доля составляет 30-80% от общей численности дрожжей. На листьях обычны также виды *Mrakia frigida*, *Leucosporidium scottii*, большинство штаммов которых относятся к психрофилам, а также широко распространенные и в других природных зонах виды *Cryptococcus albidus*, *Rhodotorula glutinis*, *Sporobolomyces roseus*, черные дрожжи. Все эти виды можно выделить с любого тундрового растения. Особенностью эпифитных дрожжевых сообществ тундры является почти полное отсутствие аскомицетовых дрожжей, например, видов *Metschnikowia pulcherrima* и *M. reukaufii*, которые являются характерными обитателями листьев и цветков энтомофильных растений в бореальной полосе.

В разлагающихся растительных остатках - в подстилке, торфянистых горизонтах тундровых почв, в нижней части моховой дернины - дрожжи также постоянно присутствуют, но представлены здесь очень однородным комплексом, в котором обычно более 90% общей численности дрожжей приходится на долю одного вида *Cryptococcus gilvescens*. Это единственный настоящий арктический вид дрожжей, который встречается только в пределах тундровой зоны, причем циркумполярно. Штаммы *Cr. gilvescens* были выделены в разных районах Таймыра, в низовьях Колымы, на Аляске. Другие дрожжи, обычные в разлагающихся растительных остатках тундровых почв, представлены видами *Mrakia frigida*, *Trichosporon pullulans*, *Rhodotorula minuta*, *Cryptococcus albidus*.

Из минеральных горизонтов тундровых почв дрожжи выделяются редко, не более чем в 20% случаев. Их численность здесь обычно лежит на границе чувствительности метода посева и редко превышает 10^3 КОЕ/г. В почве представлены те же виды, что и в разлагающихся остатках, но с еще более выраженным доминированием *Cr. gilvescens*. Липомицеты полностью отсутствуют в почвах тундровой зоны. Различные типы тун-

дровых почв: тундровые глеевые, дерновые почвы тундровых луговин, примитивные, тундрово-болотные не отличаются по видовой структуре населяющих их дрожжевых сообществ: во всех типах резко доминирует один вид *Cr. gilvescens*. Несколько более разнообразны дрожжи, обитающие в зоогенных почвах, которые обычно формируются на южных сторонах холмов, на легких породах, в местах, активно посещаемых животными (например около норовищ песцов, колоний леммингов, мест постоянного кормления хищных птиц). Кроме лучших температурных условий в таких местах есть постоянный приток свежего органического вещества (экскрементов, остатков пищи). Биомасса дрожжей на 1 м^2 такой зоогенной почвы может быть выше чем на 10000 м^2 пятнистой тундры. Видовое разнообразие дрожжей в таких почвах также довольно высокое. Здесь могут быть обнаружены многие виды дрожжей, в том числе аскомицетовые, более характерные для южных зон.

Лесная полоса. В лесах умеренной полосы формируются наиболее сложные и разнообразные группировки дрожжевых грибов по сравнению с биогеоценозами других природных зон. Разнообразие дрожжевого населения леса значительно выше, прежде всего за счет аскомицетовых дрожжей, представленных как телеоморфными (*Debaryomyces*, *Pichia*, *Metschnikowia*, *Hanseniaspora*, *Lipomyces*), так и анаморфными родами (*Candida*, *Arxula*, *Blastobotrys*, *Mastigomyces*, *Schizoblastosporion*). Кроме того для лесных биогеоценозов характерно широкое распространение анаморфных дрожжей, совершенные стадии которых являются фитопатогенами и тесно ассоциированы с определенными видами деревьев (*Taphrina*, *Protomyces*).

В целом аскомицетовые дрожжи представляют собой довольно стенобионтную группу организмов, развивающихся в основном в локусах с повышенным содержанием легкодоступных сахаров. Однако их можно встретить также и на листьях растений, на растительных остатках и в почве. В лесной полосе доля аскомицетовых дрожжей в таких субстратах пространственно-сукцессионного ряда наиболее велика. По-видимому, это связано с тем, что в лесных биогеоценозах, как в наиболее сложных, имеется наибольшее разнообразие типов местообитаний, в том числе и таких, в которых обильно развиваются бродящие аскомицетовые дрожжи, и которые отсутствуют в других природных зонах

(сокотечения деревьев, буровая мука жуков-ксилофагов, разнообразные беспозвоночные-фитофаги). Поэтому здесь выше вероятность попадания этих дрожжей и в другие местообитания. С другой стороны, распространение сахаромицетовых дрожжей, как экологически специализированных организмов, может в большей степени ограничиваться неблагоприятными климатическими условиями по сравнению с эврибионтными дрожжевыми грибами базидиомицетового аффинитета, многие из которых способны к образованию протекторных структур типа капсул или каротиноидных пигментов.

Для дрожжевых комплексов в лесных биогеоценозах характерно более выравненное, чем в других природных зонах, распределение обилия по видам. В областях климатического пессимума для сообществ дрожжей, рассматриваемых на биогеоценотическом уровне, характерно явление супердоминирования, когда один или несколько видов резко преобладают не только в субстратах определенного типа, но и в биогеоценозе в целом, причем независимо от типа последнего. Как уже отмечалось, в тундровой зоне такими видами являются *Cryptococcus gilvescens* для почвенного и *Cryptococcus laurentii* для надземного ярусов. В субтропических пустынях во всех типах субстратов резко доминирует один вид - *Cryptococcus diffluens*. В лесных биогеоценозах такие однозначно преобладающие виды выявить значительно труднее, и распределение относительного обилия видов носит менее предсказуемый характер.

Эпифитный комплекс дрожжей в лесной полосе особенно разнообразен. Численность дрожжей на листьях лесных трав в среднем составляет 10^5 КОЕ/г, но может достигать 10^7-10^8 КОЕ/г. Наиболее часто на надземных частях растений встречаются виды *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, *Sporobolomyces roseus*, *Rhodotorula glutinis*, *Rh. fujisanensis*, *Rh. mucilaginosa*. Из аскомицетовых дрожжей наиболее обычны *Metschnikowia pulcherrima*, *Debaryomyces hansenii*, различные виды рода *Pichia*. Соотношение между видами эпифитных дрожжей сильно варьирует в зависимости от вида растения, сезона, типа биогеоценоза.

В лесных подстилках численность дрожжей падает до 10^4 КОЕ/г. Видовое разнообразие дрожжей здесь заметно меньше, чем на надземных частях растений. Характерной особенностью дрожжевого населения лес-

ной подстилки можно считать сообитание представителей разных жизненных форм дрожжей: типичных эпифитов, педобионтов, а также собственно подстилочных видов. Очевидно, что представители эпифитной микрофлоры постоянно попадают в подстилку с опадом, а почвенные виды заносятся в результате жизнедеятельности различных почвенных животных. В то же время, судя по высокой численности эпифитных и почвенных видов, в подстилке может происходить и их активное размножение. В верхних слоях подстилки (L) обычно доминируют те же виды, что и на растениях: *Cryptococcus albidus*, *C. laurentii*, дрожжи с каротиноидной и меланоидной пигментацией. В слое ферментации (F) и особенно в гумифицированном слое (H) обычны характерные подстилочные виды: дрожжеподобные грибы рода *Trichosporon* и *Cystofilobasidium capitatum*, которые приурочены к поздним стадиям деструкции растительных остатков и редко обнаруживаются на живых листьях растений. В нижних слоях подстилки постоянно встречаются также почвенные виды *Cryptococcus terricola*, *Cryptococcus podzolicus*, липомицеты.

Среди дрожжей, населяющих минеральные горизонты автоморфных лесных почв (подзолистых, дерново-подзолистых, бурых лесных) первое место принадлежит липомицетам. В бореальной полосе распространены многоспоровые виды липомицетов: *Lipomyces starkeyi* и *Lipomyces lipofer*. При учете на сусло-агаре в минеральных горизонтах также дрожжи обнаруживаются постоянно, но большинство видов встречается спорадически, общая численность дрожжей редко превышает 10^3 КОЕ/г. Тем не менее, два вида дрожжей выделяются из минеральных горизонтов лесных почв чаще, чем из других субстратов: *Cryptococcus terricola* и *C. podzolicus*. Наряду с этими почвенными видами в верхних горизонтах постоянно присутствуют типичные подстилочные виды *Cystofilobasidium capitatum*, *Trichosporon pullulans*, а также эпифиты *Cryptococcus laurentii*, *Sporobolomyces roseus*, *Rhodotorula glutinis*, *Rh. mucilaginosa*. Особенностью верхних горизонтов подзолистых почв является постоянное присутствие аскомицетовых дрожжей из родов *Pichia*, *Debaryomyces*, *Hanseniaspora*.

Гидроморфные почвы болот таежно-лесной полосы характеризуются значительно большей численностью дрожжей. Дрожжевые сообщества болотно-торфяных почв отличаются значительно более высокими

значениями общей численности, до 10^4-10^5 КОЕ/г и отсутствием характерного для зональных почв падения численности при переходе от верхних горизонтов к нижним. В торфе доминируют те же эпифитные и эврибионтные виды, которые обычны на листьях растений. Среди них особенно многочисленны *Cryptococcus albidus*, *Rhodotorula mucilaginosa*, *Sporobolomyces roseus*. Характерно, что именно эти виды наиболее толерантны к целому комплексу лимитирующих факторов и часто доминируют в воздухе, в пыли и в других субстратах, где заведомо не может происходить их активного размножения. Численность дрожжей в торфе не зависит от таких факторов, как ОВП, pH, уровень аэрации, ботанический состав торфа. Все это говорит о том, что дрожжи в болотном торфе фактически консервируются в неактивном состоянии. Анаэробные условия, лимитация минеральными элементами, низкие температуры не позволяют дрожжевым клеткам активно размножаться. Тем не менее, интенсивного отмирания наиболее толерантных эпифитных дрожжей в торфах также не происходит за счет таких адаптивных свойств, как защитная каротиноидная пигментация, образование капсул и хламидоспороподобных клеток.

В то же время нельзя исключить и локальных вспышек активности дрожжей в торфяно-болотных почвах. Об этом свидетельствует значительно более высокое, по сравнению с другими почвенными и растительными субстратами, содержание в торфе аскомицетовых дрожжей, способных осуществлять анаэробные процессы спиртового брожения. Известны также специфические виды, выделяющиеся только из торфа и не обнаруживающиеся в других субстратах. К ним относятся *Schizoblastosporion starkeyi-henricii*, *Candida paludigena, Candida aurita*. По-видимому, это стенобионтные виды, приспособленные к обитанию именно в болотном торфе, хотя их адаптивные свойства еще мало изучены.

Степь. Степи занимали огромные пространства на территории России. Теперь в Европейской части они почти полностью распаханы за исключением ряда заповедников (Попереченская степь, Михайловская целина, Хомутовская степь), которые представляют большой интерес как примеры самых продуктивных экосистем суши с наиболее зрелыми и плодородными высокогумусными почвами, черноземами. В этих заповедниках проводились исследования дрожжевого населения.

В зоне степей дрожжевые сообщества можно подразделить на два различных типа: эпифитный и почвенный.

Дрожжи в массе развиваются на живых и мертвых надземных частях степных растений. Их численность здесь достигает 10^6 КОЕ/г. Наиболее распространенные эпифитные виды дрожжей - те же, что и в лесной полосе: *Cryptococcus albidus*, *Cryptococcus laurentii*, краснопигментированные баллистоспоровые дрожжи *Sporobolomyces roseus* и различные виды рода *Bullera*. В отличие от более северных лесных районов в степи существенно выше доля пигментных дрожжей. Кроме видов, обладающих каротиноидной пигментацией, на листьях степных растений в большом количестве развиваются «черные дрожжи», образующие меланоидные пигменты, прежде всего *Aureobasidium pullulans*. Так же как в лесной полосе, на энтомофильных растениях обычны виды *Metschnikowia pulcherrima* и *Metschnikowia reukaufii*. Кроме того, на листьях степных растений широко распространены базидиомицетовые фитопатогенные грибы из группы головневых (Ustilaginales), гаплоидные стадии которых способны расти сапротрофно и формируют типичные дрожжевые колонии при посеве на питательные среды.

В отличие от лесных биогеоценозов, в степях не выражен особый подстилочный комплекс дрожжевых грибов. Хотя в луговых и типичных степях обычно формируется мощный слой т.н. «степного войлока», состоящего из неразложившихся остатков трав, его дрожжевое население во видовому составу такое же, как на живых частях растений. Виды, типичные для лесной подстилки, такие как *Cryptococcus podzolicus*, *Cystofilobasidium capitatum*, представители рода *Trichosporon*, здесь редки или отсутствуют. По-видимому, это связано с низкой влажностью этого субстрата на протяжении большей части года.

Численность дрожжей в степных черноземах очень низка при учете на средах типа сусло-агара и редко превышает 10^3 КОЕ/г. Среди дрожжей, выделяемых из черноземов, обычны те же эпифитные виды, что и на растениях. В то же время, в степных биогеоценозах имеются и истинно почвенные дрожжи. К ним относится вид *Cryptococcus aerius*, который выделяется из почв южных зон значительно чаще, чем из других местообитаний. Однако наиболее обильны в черноземах степей настоящие педобионты - липомицеты. Они выделяются из всех почв зоны сте-

пей до глубины более 50 см, давая до 90-100% обрастания почвенных комочков на среде Эшби. Представлены они здесь одним видом *Lipomyces tetrasporus*, который может быть встречен и в других почвах с высоким содержанием гумуса.

Пустыня. Как уже отмечалось, одним из наиболее изученных местообитаний, в которых формируются обильные и разнообразные дрожжевые сообщества, являются гниющие ткани кактусов в североамериканских пустынях. Рассмотрим теперь особенности дрожжевого населения пустынных почв, растительных остатков и различных растений, которые были изучены в основном в пустынях Средней Азии.

По сравнению с более северными зонами, в пустынях численность эпифитных дрожжей на листьях растений в среднем существенно ниже и обычно не превышает 10^4 КОЕ/г. Особенно мало дрожжей на листьях суккулентных и склерофитных видов растений, которые наиболее характерны для зоны пустынь. Основной тип питания дрожжевых клеток на живых частях растений - эккрисотрофный, поэтому толстая кутикула ксерофитов и ограничение прижизненных выделений могут лимитировать развитие эпифитов. В то же время, после периода весенних дождей, когда в пустынях обильно развиваются эфемеры и эфемероиды, на их листьях успевают размножиться эпифитные дрожжи, численность которых может превышать 10^6 КОЕ/г. Эфемеры быстро отмирают, однако в их высохших остатках, которые могут сохраняться на поверхности почвы длительное время, а также в опаде многолетних растений, жизнеспособные дрожжи сохраняются на уровне 10^5-10^6 КОЕ/г.

В пустынных почвах численность дрожжевых грибов очень низкая и, как правило, находится на пределе чувствительности метода посева - менее 10^2 КОЕ/г. Более или менее постоянно дрожжи обнаруживаются лишь в самых верхних горизонтах: корковом горизонте серо-бурых пустынных почв и закрепленных песков, в водорослевой корке такыров, то есть там, где в почвенной массе присутствуют свежие растительные остатки. При этом их численность существенно выше под кустарниками или под густыми разрастаниями эфемеров, чем на голых участках. В минеральных почвенных горизонтах глубже 10 см дрожжи можно встретить только на поверхности корней. Особенно редко уда-

ется обнаружить дрожжи в солончаках, что, очевидно, связано с высокими значениями pH в этих почвах. Липомицеты в почвах пустынь не обнаруживаются.

Видовой состав дрожжей в пустынях Средней и Центральной Азии беден по сравнению с северными природными зонами. Наиболее часто как на растениях, так и в почвах обнаруживается один вид анаморфных дрожжей базидиомицетового аффинитета - *Cryptococcus albidus*. На листьях растений и в растительных остатках на долю этого вида обычно приходится не менее половины общей численности дрожжей, а в почве - до 90% и более. Дрожжи, которые относят к этому виду - типичные эвритопы. Они широко распространены во всех природных зонах. В то же время *Cryptococcus albidus* sensu lato - сборный вид, включающий множество разновидностей, которые мало различаются по фенотипическим признакам, но могут быть разделены методами геносистематики. В зоне пустынь этот вид представлен главным образом разновидностью *Cryptococcus albidus var. diffluens*, который по уровню генотипических отличий можно рассматривать и в качестве самостоятельного вида *Cryptococcus diffluens*. Встречаемость *Cryptococcus diffluens* закономерно увеличивается от северных широт к южным. В лесной полосе этот вид встречается редко, однако его численность увеличивается в субстратах с очень низкой влажностью. Например, он постоянно обнаруживается в пыли, на листьях ксерофитных растений в засушливые периоды. Такой характер распространения согласуется с адаптивными особенностями этих дрожжей. Для них характерно формирование уже в 3-5 суточных культурах хламидоспороподобных клеток с утолщенными клеточными стенками. В лабораторных исследованиях показано, что *Cryptococcus diffluens* способен переносить очень длительное обезвоживание в неактивном состоянии.

Безусловно, недостаток влаги в первую очередь определяет особенности дрожжевого населения пустынных биогеоценозов. В тех случаях, когда режим увлажнения существенно отличается, может меняться и видовой состав эпифитных дрожжей. Например, такие отличия были обнаружены при сравнении дрожжевого населения двух субтропических пустынь: Каракумы и Негев. Многолетние исследования показали, что в пустынях Средней Азии на листьях растений и в растительных

остатках преобладает *Cryptococcus diffluens*, тогда как в пустыне Негев - *Cryptococcus laurentii*, характерный для более северных зон. При этом общая численность дрожжей на растениях в пустыне Негев в среднем значительно выше. Это объясняется климатическими особенностями пустыни Негев, а именно частыми туманами, которые практически не влияют на уровень влажности в почве, но могут служить дополнительным источником влаги для надземных субстратов. Морфологические и физиологические характеристики преобладающих видов дрожжей коррелируют с климатическими особенностями регионов. Как уже отмечалось, *Cryptococcus diffluens* способен переносить длительное обезвоживание в неактивном состоянии, и стратегия этого вида в континентальных пустынях Средней Азии заключается в переживании сухого периода в состоянии хламидоспор и в увеличении активности в короткие влажные периоды непосредственно после весенних дождей. Клетки дрожжей вида *Cryptococcus laurentii*, преобладающего в пустыне Негев, способны формировать мощную полисахаридную капсулу. Такие капсулы хорошо адсорбируют влагу из воздуха, что может давать преимущество при развитии в условиях частых туманов. Таким образом, региональные отличия в структуре дрожжевого населения пустынь могут быть весьма значительными в случае существенных различий в режиме увлажнения.

Характерной особенностью пустынной зоны является преобладание среди микроскопических грибов темноцветных видов, формирующих меланоидные пигменты, таких как *Cladosporium*, *Alternaria*, *Ulocladium*. Среди них значительную долю составляют и «черные дрожжи», представленные родами *Aureobasidium*, *Phaeococcomyces*. Относительное обилие этих дрожжеподобных грибов на листьях растений в пустынной зоне еще выше, чем в степях.

В почвах пустынь почти полностью отсутствуют аскомицетовые дрожжи, что характерно также и для экстремально холодных местообитаний - тундр и высокогорий. В отличие от бореальных и арктических областей, в субтропических пустынях значительную долю составляют баллистоспоровые дрожжи, близкие к родам *Bullera*, *Bensingtonia* и *Udeniomyces* и очень незначительно представлены телиоспоровые дрожжи *Leucosporidium*, *Mrakia*, *Rhodosporidium*. В растительных остатках в пустынях были выделены лишь единичные штаммы *Trichosporon*

pullulans, *Cystofilobasidium capitatum*, которые бывают очень обильны в лесных подстилках. Кроме *Cryptococcus diffluens* в почвах пустынь обычны и другие виды криптококков, в частности *Cryptococcus aerius* и *Cryptococcus dimennae*.

Высокогорья. Высотная поясность в определенной степени аналогична явлению широтной зональности. С увеличением высоты местности в дрожжевом населении происходят изменения, аналогичные тем, которые наблюдаются при переходе к высокоширотным областям. В высокогорьях Памира, Тянь-Шаня, Кавказа средняя численность дрожжей в почвах горных тундр и горных лугов на высотах более 3000 м значительно ниже, чем в почвах горных лесов (2000-3000 м). В экстремальных условиях субнивального и нивального высокогорных поясов значительно снижается видовое разнообразие дрожжей, почти не встречаются аскомицетовые виды и преобладают представители рода *Cryptococcus*. Однако виды криптококков здесь иные, нежели в высокоширотной Арктике. В высокогорных тундрах Памира не обнаружен *Cryptococcus gilvescens*, доминирующий в почвах тундровой зоны, но преобладают те же виды криптококков, которые распространены в пустынях Памирских предгорий: *Cryptococcus aerius* и *Cryptococcus diffluens*. Среди дрожжей, обнаруживаемых в высокогорных почвах нивального пояса, встречаются уникальные виды, хорошо приспособленные к обитанию в таких экстремально холодных местообитаниях и не встречающиеся за их пределами. К ним относится дрожжеподобный гриб *Tausonia pamirica* - облигатный психрофил, верхняя температурная граница роста которого не превышает 18°С.

Функции дрожжевых грибов в природных экосистемах

Какую же роль играют дрожжи в функционировании природных экосистем? В большинстве местообитаний они не занимают первых мест среди других групп микроорганизмов по численности и биомассе. Особенно невелика доля дрожжей в местообитаниях, бедных свежим органическим веществом, например в почвах, природных водах. В минеральных горизонтах почв их численность обычно не превышает 10^2 клеток/г при учете методом посева на плотные среды. Среди дрожжей нет активных гидролитиков, способных разрушать сложные полимеры, такие как целлюлоза или лигнин. Поэтому в почвах дрожжи вынуждены либо «под-

бирать» легкодоступные низкомолекулярные соединения, высвобождающиеся при гидролизе полимеров бактериями и грибами, либо переживать длительные периоды голодания между случайными поступлениями свежих органических остатков (например, в результате деятельности почвенных беспозвоночных). В то же время, в лесных подстилках численность дрожжей может составлять десятки миллионов клеток/г, и в таких случаях их деструкционная деятельность должна быть весьма значительной. Наконец, во многих рассмотренных выше локальных местообитаниях с высоким содержанием сахаров или органических кислот дрожжи могут существенно преобладать среди других микроорганизмов и играть главную роль в утилизации таких соединений.

Таким образом, функции дрожжей в природе могут быть сведены к следующим процессам:

- быстрое освоение локусов с высоким содержанием легкодоступных источников питания, характерное для большинства аскомицетовых дрожжей; часто это приводит к значительному накоплению дрожжевой биомассы, которая может служить кормом для беспозвоночных животных (буровая мука ксилофагов, гниющие ткани кактусов);
- «подбирание» прижизненных выделений растений (эккрисотрофия) и «запуск» сукцессий при разложении растительных остатков для эпифитных дрожжей, развивающихся на живых частях растений;
- гидролиз растительных полимеров на начальных стадиях деструкции растительных остатков в подстилках и верхних слоях почвы;
- улавливание остаточных легкодоступных веществ в минеральных горизонтах почв со способностью переживать неблагоприятные условия (L-стратегия).

Специализация на выполнении этих функций приводит у разных групп дрожжевых грибов к формированию характерного комплекса морфологических и физиологических свойств. Это дает возможность говорить о различных жизненных формах дрожжей. В общей экологии термином «жизненная форма» обозначается внешний облик, определенный морфологический тип организма, сформировавшиеся в результате приспособления к определенной среде обитания. Как уже отмечалось, дрожжи в современном понимании представляют собой определенную жизненную форму грибов. У микроорганизмов приспособления носят в ос-

новном физиологический характер, и при выделении таких экологических групп необходимо учитывать физиологические характеристики, поэтому правильнее говорить не о жизненных формах, а о морфо-физиологических группах.

Соответственно перечисленным выше функциям среди дрожжей можно выделять следующие жизненные формы (табл. 2).

Сахаробионты - «настоящие» дрожжи, наиболее типичным представителем которых является *Saccharomyces cerevisiae*. Они обладают комплексом свойств, свидетельствующим об их приспособленности к существованию в средах, обогащенных легкодоступными источниками углерода. Отсутствие пигментации, развитых мицелиальных структур,

Таблица.2. Жизненные формы дрожжей.

Тип	Адаптивные признаки	Основные местообитания	Типичные виды
Сахаробионты	Отсутствие выраженных морфологических адаптаций, брожение, r-стратегия	Сочные плоды, нектар, сокотечения деревьев, беспозвоночные	*Saccharomyces cerevisiae* *Saccharomycodes ludwigii* *Hanseniaspora uvarum* *Metschnikowia pulcherrima*
Фитобионты	Пигментация, баллистоспоры, капсулы, окислительный обмен, липазная активность, r-стратегия	Живые и отмершие части растений	*Sporobolomyces roseus* *Rhodotorula glutinis* *Cryptococcus flavus*
Сапробионты	Мицелиально-дрожжевой диморфизм, окислительный обмен, гидролазная активность, K-стратегия	Лесные подстилки	*Trichosporon pullulans* *Cystofilobasidium capitatum* *Cryptococcus podzolicus*
Педобионты	Отсутствие пигментации, внутриклеточные липиды, окислительный обмен, олигонитрофилия, L-стратегия	Минеральные горизонты почв	*Lipomyces spp.* *Cryptococcus aerius* *Cryptococcus terricola*

хламидоспор, слизистых капсул, а также способность к более или менее интенсивному брожению и узкий спектр усваиваемых соединений углерода - характерный набор свойств этих дрожжей. Кроме сахаромицетов к сахаробионтам следует относить представителей родов *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, *Torulaspora*, *Zygosaccharomyces*, а также большинство видов из родов *Pichia* и *Candida*.

Фитобионты - адаптированы к обитанию на поверхности живых частей растений и, как правило, образуют каротиноидные пигменты. Они часто имеют в цикле развития хламидоспоры или хламидоспороподобные клетки, устойчивые к высушиванию. Характерный признак многих видов - образование баллистоспор, рассеивающихся токами воздуха. Наиболее типичные представители фитобионтов - роды *Sporobolomyces* и *Sporidiobolus*, некоторые виды родов *Rhodotorula* и *Cryptococcus*.

Сапробионты обладают относительно высокой гидролитической активностью и принимают участие в деструкции растительных остатков на средних и поздних стадиях. К типичным сапробионтам относятся некоторые виды рода *Trichosporon*, *Cystofilobasidium capitatum*, группа несовершенных видов базидиомицетового аффинитета, классифицируемых в роде *Cryptococcus* (*Cryptococcus podzolicus*, *Cr. humicolus*).

Педобионты - дрожжи, наиболее приспособленные к обитанию на твердых поверхностях почвенных частиц. Они обладают слизистыми капсулами, которые создают межклеточную среду, сохраняющую благоприятный режим влагообмена и питания в условиях временного иссушения почвы. Эти дрожжи способны накапливать большое количество запасных веществ, главным образом в форме липидов, которые обеспечивают переживание длительных периодов голодания. Для них также характерна способность к усвоению соединений азота в очень низкой концентрации (олигонитрофилия). Типичные представители педобионтов - все виды липомицетов. По-видимому, к педобионтам можно также отнести некоторые виды криптококков, в частности *Cryptococcus terreus*, *Cr. aerius*, *Cr. terricola*.

Можно выделить и другие важные функции, осуществляемые дрожжевыми грибами в природных экосистемах. Капсулы базидиомицетовых

дрожжей, по-видимому, служат местом обитания бактерий. В таких бактериально-дрожжевых ассоциациях могут усиливаться многие важные процессы, например азотфиксация. Внеклеточные полисахариды почвенных дрожжей влияют на агрегатное состояние почв и служат субстратом для бактерий. Клетки дрожжей активно поедаются многими почвенными животными: амебами, микроартроподами, червями. Кроме источника энергии дрожжи в рационе животных могут выступать в качестве важного источника витаминов.

ДРОЖЖИ - ВОЗБУДИТЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

Среди дрожжей нет облигатно-патогенных видов, которые могут размножаться только в организме человека. Однако, в природных местообитаниях встречаются факультативно-патогенные и условно-патогенные дрожжи, которые могут вызывать серьезные заболевания у людей с ослабленным иммунитетом. К таким заболеваниям относятся кандидоз, вызываемый некоторыми видами рода *Candida*, в первую очередь *Candida albicans*, и криптококкоз, возбудитель которого - *Cryptococcus neoformans*.

Кандидоз

Основным возбудителем кандидоза является *Candida albicans* (см. рис. 25). Однако это заболевание могут вызывать и другие виды: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata, C. krusei*, реже *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. rugosa* и др. Все они являются несовершенными дрожжеподобными грибами аскомицетового аффинитета. Их довольно часто можно встретить в различных природных местообитаниях. Многие из них также относятся к компонентам нормальной микрофлоры человека, то есть постоянно обитают в теле здоровых людей. Их часто можно выделить с кожи, слизистых оболочек, из фекалий. Важной особенностью всех этих видов является их способность к росту при 37°С, те есть при температуре тела человека.

Массовое развитие дрожжей в теле человека приводит к кандидозу. Заболевание возникает в основном у людей с ослабленной иммунной системой. Наиболее распространенными причинами являются злокачественные новообразования, травмы, ожоги и серьезные хирургические вмешательства, длительное лечение антибиотиками широкого спектра действия, преждевременные роды; трансплантация органов и тканей, которая обычно сопровождается применением препаратов, подавляющих естественный иммунитет. Повышенные шансы заболеть кандидозом имеют недоношенные новорожденные и лица пожилого возраста с наличием тяжелых заболеваний, а также наркоманы, использующие нестерильные шприцы. В последнее время кандидоз особенно часто развивается у больных СПИДом. Кандидоз встречается во всем мире.

Клинические формы кандидоза могут быть очень разнообразными. Они варьируют от поверхностных поражений слизистых оболочек, кожи

и ногтей (рис. 48) до обширных поражений различных внутренних органов и тканей. Распространенной формой кандидоза является т.н. «молочница», при которой поражаются слизистые оболочки рта и горла. При этом на языке и слизистой оболочке рта появляются кремово-белые пятна, которые распространяются на небо и глотку. Поскольку возбудитель при этом проглатывается, в отсутствие лечения возможно инфицирова-

Рис. 48. Различные клинические проявления поверхностых форм кандидоза: поражения ногтей, кожи, слизистых оболочек.

ние легких и желудочно-кишечного тракта. Сходные с молочницей симптомы возникают при поражении слизистых оболочек половых органов. При поверхностном кандидозе могут также поражаться крупные складки кожи, особенно под молочными железами, паховые и межъягодичные области, заушные складки. На коже возникают омертвевшие белые участки, которые превращаются в мокнущие красные эрозии. Больных при этом беспокоит зуд, жжение.

При поражении дрожжами внутренних органов возникают особенно тяжелые формы кандидоза, характеризующиеся высокой летальностью, достигающей 30-70%. В зависимости от локализации возбудителя в теле у больных могут развиваться кандидозная пневмония, кандидозный менингит, поражения различных внутренних органов.

Основным способом лечения кандидозов является применение антимикотиков - антигрибных препаратов (см. рис. 45). Среди них наиболее распространены амфотерицин В, флуконазол, итраконазол. Очень большое значение имеет точная идентификация возбудителя, так как разные виды *Candida*, вызывающие кандидоз, имеют различную чувствительность к этим препаратам. Для этого возбудитель должен быть выделен из тела больного с помощью посева проб пораженных тканей на питательные среды и получен в виде чистой культуры. Виды *Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. lusitaniae* при росте на питательных средах очень близки по морфологическим и физиологическим характеристикам и для их точной идентификации приходится применять современные молекулярно-биологические методы.

Криптококкоз

Криптококкоз (торулез, европейский бластомикоз) - заболевание, вызываемое несовершенными дрожжами базидиомицетового аффинитета *Cryptococcus neoformans*. Дрожжи этого вида можно встретить в природных местообитаниях, но наиболее часто его обнаруживают в помете голубей, воробьев и других птиц, при этом сами птицы не болеют. В сухом помете криптококки могут сохраняться в течение многих месяцев. *Cr. neoformans* обнаруживали также на слизистых оболочках здоровых людей.

Инфицирование человека обычно происходит воздушно-пылевым путем. Наиболее опасным проявлением криптококкоза является менингоэнцефалит, при котором поражается центральная нервная система. Заболевание начинается приступами головной боли, которые постепенно усиливаются и становятся нестерпимыми. Появляются признаки паралича, сознание нарушается. Развитие болезни ведет к постепенному истощению организма, затем коматозному состоянию. Смерть наступает от паралича дыхания через 4-6 месяцев. Смертность при криптококко-

вом менингите достигает 100%. У многих больных, кроме поражения центральной нервной системы, развивается криптококкоз легких. Он протекает в виде пневмонии, которая по симптомам очень похожа на пневмонии другой этиологии. При диссеминированной форме криптококкоза могут поражаться самые различные органы. Встречаются также поражения кожи и слизистых оболочек, которые протекают относительно легко. Также как и в случае кандидоза, наибольшие шансы заболеть криптококкозом имеют люди с нарушением клеточного иммунитета, обусловленным СПИДом, лейкозом, отторжением трансплантанта при пересадке органов и тканей, а также длительным применением иммуносупрессантов.

Вследствие большой медицинской значимости дрожжи *Cryptococcus neoformans* очень детально исследованы. История изучения этого вида насчитывает уже более 100 лет. На питательных средах он выделяется в гаплоидной фазе, представленной почкующимися клетками. Практическая диагностика *Cr. neoformans* основана на некоторых его характерных особенностях, в частности образовании коричневых колоний на средах с фенольными соединениями за счет синтеза меланинов, редко встречающейся способности к утилизации в качестве источника азота креатинина. Внутри этого вида различают две разновидности с различными серотипами. Принадлежность к разным серотипам определяется различиями в строении капсульных полисахаридов. К разновидности *Cr. neoformans var. neoformans* принадлежат серотипы, обозначаемые как А и D, к *Cr. neoformans var. gattii* - серотипы В и С. Разновидности *Cr. neoformans* имеют различное распространение. *Cr. neoformans var. neoformans* встречается повсеместно и в природе обнаруживается наиболее часто в птичьем помете, а *Cr. neoformans var. gattii* характерна для тропических и субтропических регионов. У обоих разновидностей найдены совершенные стадии, принадлежащие к телеоморфному роду *Filobasidiella* (рис. 49) Для *Cr. neoformans var. neoformans* - это *F. neoformans var. neoformans*, для *Cr. neoformans var. gattii* - *F. neoformnans var. bacillispora*. Обе телеоморфы гетероталличны и развиваются лишь при смешивании дрожжевых штаммов комплиментарных типов спаривания. При этом развиваются дикариотические гифы с пряжками, на которых формируются удлиненные булавовидные несептированные базидии. В базидиях про-

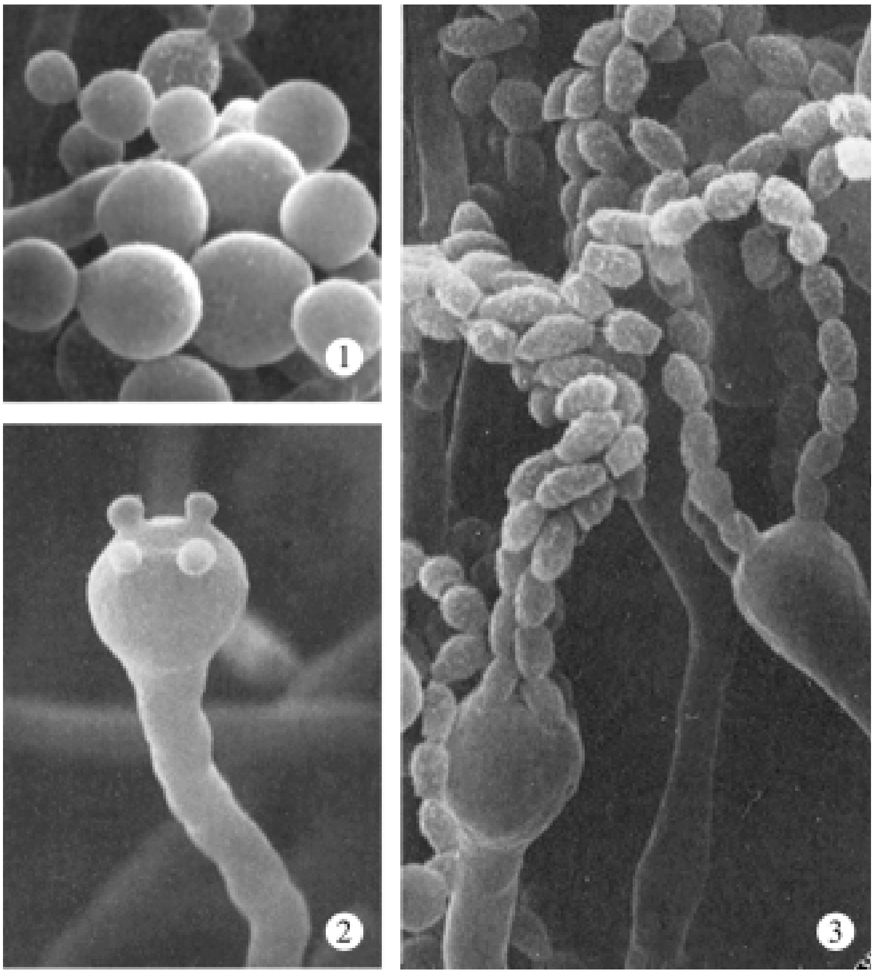


Рис. 49. Filobasidiella neoformans – телеоморфная стадия Cryptococcus neoformans: 1 – почкующиеся клетки, 2 – базидия, 3 – базидии с цепочками базидиоспор.

исходит кариогамия, а после миграции диплоидного ядра к вершине базидии протекает мейоз. Возникшие гаплоидные ядра продолжают делиться митотически и дают начало длинным цепочкам базидиоспор. Образование базидиоспор объясняет механизм заражения человека воздушно-пылевым путем. Долгое время оставалось непонятным, каким образом относительно крупные (до 8-10 мкм) дрожжевые клетки криптококков проникают в альвеолы легких. Первичное заражение человека происходит именно базидиоспорами, имеющими диаметр всего 1-3 мкм, и к тому же более устойчивыми к неблагоприятным условиям среды, чем вегетативные клетки.

Для лечения криптококкоза используют различные антимикотики, такие как амфотерицин, флуконазол, подавляющие у грибов синтез эрго-

стерина, и 5-фторцитозин, ингибирующий у них синтез нуклеиновых кислот. Для большей эффективности эти препараты используют комбинированно, что обусловлено также и частым обнаружением резистентных к ним штаммов. Обнаружение последних вынуждает медиков вести непрерывный поиск новых антифунгальных агентов.

Malassezia

Дрожжи рода *Malassezia* - облигатные симбионты человека и теплокровных животных, обитающие на поверхности их кожи и на волосяном покрове. В других местообитаниях эти организмы не встречаются. Первые описания этих грибов относятся к середине XIX в. Они были обнаружены в образцах кожи людей, больных так называемым пестрым лишаем. При микроскопировании кожных чешуй в них наблюдали короткие гифы, проникающие в слой эпидермиса. Первые попытки культивировать эти грибы были безуспешными. В образцах кожи и волос можно также нередко наблюдать присутствие дрожжевых клеток, которые также не культивируются на обычных средах для дрожжей. Этот организм, вызывающий образование перхоти, получил название *Pityrosporum*. Вырастить эти организмы в культуре удалось в 20-х гг. XX в. Оказалось, что для роста им необходимы добавки жирных кислот, например оливкового масла. Позже при культивировании *Pityrosporum* обнаружилось, что эти дрожжи способны к образованию гиф, которые по морфологии идентичны гифам *Malassezia*. Таким образом было доказано, что *Pityrosporum* и *Malassezia* - это дрожжевая и мицелиальная стадия одного и того же гриба.

Характерная особенность дрожжеподобных грибов рода *Malassezia* - монополярное энтеробластическое почкование на широком основании. Отделившаяся почка оставляет на материнской клетке шрам в виде воротничка, из которого появляются и последующие почки (рис. 50). В результате клетка приобретает характерную форму в виде груши или лампочки. *Malassezia* относится к дрожжеподобным грибам базидиомицетового аффинитета, хотя телеоморфная стадия у них неизвестна. К настоящему времени описано восемь видов этого рода, различающихся по морфологическим и физиологическим характеристикам.

Дрожжи рода *Malassezia* вместе с различными бактериями относятся к компонентам нормальной микрофлоры человека и постоянно обнаруживаются на разных участках кожи здоровых людей. Обычны они и

на коже домашних и диких теплокровных животных, причем плотность заселения кожи этими дрожжами коррелирует с количеством выделяемого сального секрета. Однако при различных нарушениях иммунной системы виды рода *Malassezia* могут вызывать различные заболевания кожи. Из них наиболее известен упомянутый выше пестрый лишай, или **питириаз**. Это хроническое неконтагиозное заболевание, распространенное главным образом в тропических странах. Оно выражается в массовом развитии гиф *Malassezia*, которые проникают в слой эпидермиса, нарушая пигментацию и нормальную структуру поверхностного слоя кожи. Другим заболеванием, вызываемым этим грибом, является **фолликулит**, который характеризуется наличием воспалений в виде множества фолликул - мелких нарывов, распространяющихся по спине, груди, предплечьям и сопровождающихся сильным зудом. Фолликулит также встречается наиболее часто в странах с теплым климатом. Еще одно заболевание кожи, вызываемое дрожжами рода *Malassezia* - **себорейный дерматит**. Они могут выступать в качестве важного аллергена при таком распространенном в последнее время аллергическом заболевании, как **атопический дерматит**.

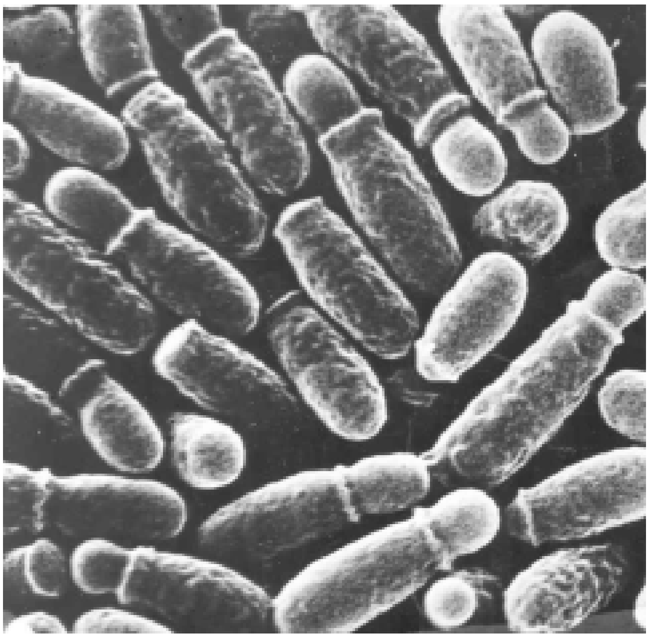


Рис. 50. Malassezia – дрожжевые клетки с монополярным энтеробластическим почкованием.

Заболевания, ассоциированные с *Malassezia*, являются в основном хроническими и характерны для людей с подавленной иммунной системой и предрасположенными к аллергии. Лечение их направлено на устранение дрожжей с помощью различных антимикотиков. У здоровых людей при нормальном функционировании сальных желез присутствие *Malassezia* на коже незаметно. Более того, они могут играть положительную роль, конкурируя с болезнетворными микроорганизмами.

ПРОМЫШЛЕННОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДРОЖЖЕЙ

Дрожжи были первыми микроорганизмами, которые человек стал использовать для удовлетворения своих потребностей. Основное свойство дрожжей, которое всегда было привлекательным для человека - это способность к образованию довольно больших количеств спирта из сахара. Первое упоминание о получении спиртных напитков в Египте, так называемой «бузы», представляющей собой разновидность пива, относится к 6000 г. до н. э. Этот напиток получали в результате сбраживания пасты, полученной при раздавливании и растирании проросшего ячменя. Приготовление бузы можно считать рождением современного пивоварения. Из Египта технология пивоварения была завезена в Грецию, а оттуда в Древний Рим. В этих же странах активно развивалось виноделие. Крепкие спиртные напитки, полученные перегонкой бражки, по-видимому, были впервые получены в Китае около 1000 г. до н. э. В Европе процесс производства спирта был завезен значительно позже. Известно, что получение виски было налажено в Ирландии в XII в. Сейчас промышленное производство спиртных напитков существует в большинстве стран мира и представляет собой крупную отрасль промышленности.

Другая группа процессов, в которых издавна используются дрожжи, также связана с их способностью к спиртовому брожению: образование углекислого газа под действием дрожжей - важнейший этап в приготовлении хлеба, приводящий к заквашиванию теста. Этот процесс также очень древний. Уже к 1200 г. до н. э. в Египте была хорошо известна разница между хлебом из кислого и пресного теста, а также польза от применения вчерашнего теста для заквашивания свежего.

Традиционные процессы

Виноделие, пивоварение и хлебопечение существуют уже несколько тысячелетий. Естественно, что за это время были отселекционированы сотни видов заквасок, которые используются для приготовления самых различных сортов вина и пива. Однако лишь в начале XIX в. были высказаны предположения, что за спиртовое брожение, вызываемое этими заквасками, ответственны присутствующие в них дрожжи, увиденные впервые в 1680 г. Антони ван Левенгуком. Эти дрожжи были описаны в

1837 г. Мейером, который дал им название *Saccharomyces*. Окончательным доказательством роли дрожжей в сбраживании сахаров считается работа Пастера, опубликованная им в 1866 г. К концу XIX в. стало известно, что сахаромицеты, выделенные из различных заквасок и различных сортов вина и пива, различаются по физиологическим свойствам, например, по способности к сбраживанию различных сахаров. В дальнейшем на основании таких физиологических различий в роде *Saccharomyces* было описано несколько десятков видов. Однако, в последние годы методами молекулярной и генетической таксономии было показано, что большинство этих «видов» на самом деле представляют собой различные физиологические расы нескольких близких биологических видов, главным образом *Saccharomyces cerevisiae*. Это такие «виды», как, например, *Saccharomyces vini*, *S. ellipsoides*, *S. oviformis*, *S. cheresiensis*, *S. chevalieri* и десятки других, которые сейчас переведены в разряд синонимов *Saccharomyces cerevisiae*. Большинство этих «видов» - это отселекционированные веками расы - такой же продукт человеческой деятельности, как сорта культурных растений. В природе их найти иногда просто невозможно. Однако, недавно Г.И.Наумов обнаружил, что дикие популяции *Saccharomyces cerevisiae* распространены на Дальнем Востоке в сокотечениях дуба. Он предположил, что Дальний Восток - центр распространения этих дрожжей. Кроме *S. cerevisiae* среди дрожжей, используемых в виноделии и пивоварении, выделяют еще три очень близких вида: *S.bayanus*, *S. paradoxus* и *S. pastorianus*, а также их межвидовые гибриды.

Кроме вина и пива, ставшими наиболее популярными, в мире производится множество разнообразных традиционных алкогольных напитков: сакэ на Востоке, пульке и текила в Южной Америке, помбе в Африке и т.д. Они различаются по типу исходного сырья, способами осахаривания полисахаридов, видами добавок. В некоторых случаях для сбраживания используются виды дрожжей, отличные от *Saccharomyces cerevisiae*. При производстве рома, например, применяются дрожжи из рода *Schizosaccharomyces*.

На протяжении нескольких тысяч лет человечество совершенствовало технологию изготовления вина, пива и хлеба, доводя ее до уровня искусства и получая все более изысканные продукты. Новый этап в развитии бродильных процессов начался после работ Пастера, Коха и дру-

гих корифеев микробиологии, которые ввели в практику метод чистых культур. Тем не менее, до конца XIX в. дрожжи применялись лишь в виноделии, пивоварении и хлебопечении. Двадцатый век с его безудержным развитием промышленности резко расширил и области применения дрожжей. Они стали выращиваться в больших масштабах в качестве источника белка и витаминов для сельскохозяйственных животных. Дрожжи - основной источник технического этанола. С помощью дрожжей сейчас получают большой спектр соединений, использующихся в разных областях человеческой деятельности. К ним относятся витамины, различные полисахариды, липиды, которые могут служить заменителями растительных масел, разнообразные ферменты, используемые в пищевой промышленности. Развитие генетической инженерии позволило использовать легко культивируемые дрожжи для получения многих полезных веществ животной и растительной природы, например инсулина.

Виноделие. В основе получения вина лежит сбраживание фруктозы и глюкозы виноградного сока с образованием этилового спирта. Собранный виноград давят и получают так называемое виноградное сусло, или **муст**, в котором содержится 10-25% сахара. При производстве красного вина кожица и косточки винограда остаются в соке в течение всего процесса брожения, тогда как для приготовления белых вин их удаляют после раздавливания ягод и сбраживается только сок. В традиционных процессах приготовления вина сбраживание муста ведется с помощью дрожжей, присутствующих на винограде. При этом в брожении участвует множество видов дрожжей, сменяющих друг друга, такие как *Hanseniaspora*, *Brettanomyces*, *Saccharomyces*. В современном виноделии для сбраживания в основном используют чистые культуры специальных рас сахаромицетов. При этом «дикие» дрожжи сначала убивают, пропуская через муст двуокись серы. После окончания брожения молодое вино необходимо осветлить и дать ему созреть. Эти процессы для высококачественных вин могут занимать несколько лет. В процессе созревания вина происходит рост бактерий, которые удаляют из него яблочную кислоту, а также различные биохимические изменения, которые улучшают вкусовые качества вина.

При производстве некоторых сортов вин в качестве исходного сырья используется не виноградный сок, а уже готовое вино. Такое, так назы-

ваемое вторичное виноделие, включает процессы дображивания и модификации вин с использованием специальных рас дрожжей. К наиболее известным продуктам вторичного виноделия относятся шампанские вина. Шампанское получают из смеси вин (купажа), в которую добавляют сахар и дрожжи, после чего выдерживают в замкнутом объеме для вторичного брожения (шампанизации). Традиционные процессы шампанизации проводятся в бутылках, на крупных заводах - в больших емкостях. При шампанизации происходит растворение и химическое связывание образующейся углекислоты, которая при открывании бутылки в результате перепада давления освобождается и придает вину неповторимую игристость.

Дрожжи вносят в производство вина двойной вклад: они ответственны за образования этанола в напитке, а также за накопление в нем множества соединений, от которых зависит его вкус и аромат. Такие соединения называются органолептическими. Часть из них образуется непосредственно в ходе брожения, часть - при химических превращениях компонентов вина в ходе его созревания. В винах обнаружены сотни органолептических соединений. Многие из них присутствуют в очень малых количествах и с трудом поддаются идентификации. Еще сложнее определить вклад всех этих соединений в окончательный букет вина, поскольку для каждого вещества характерна своя концентрация, при которой его присутствие можно уловить с помощью обоняния (так называемый порог запаха).

Пивоварение. Технология приготовления пива включает несколько этапов (рис. 51). Пиво производят из зерна, которое в отличие от винограда содержит в основном крахмал, плохо усваиваемый дрожжами. Поэтому перед сбраживанием этот крахмал необходимо осахарить (гидролизовать). Традиционно в различных странах для производства пива использовали различные виды зерновых: в Европе - ячмень, в Азии - рис, в Америке - кукурузу. При осахаривании ячменя обычно пользуются амилазами самого ячменя, которые образуются в большом количестве при прорастании зерна. Для гидролиза рисового крахмала на Востоке традиционно используют некоторые штаммы мицелиальных грибов (*Mucor*, *Aspergillus*). Проросший и высушенный ячмень (так называемый **солод**) затем высушивают в печи. При этом в результате карамелизации сахаров

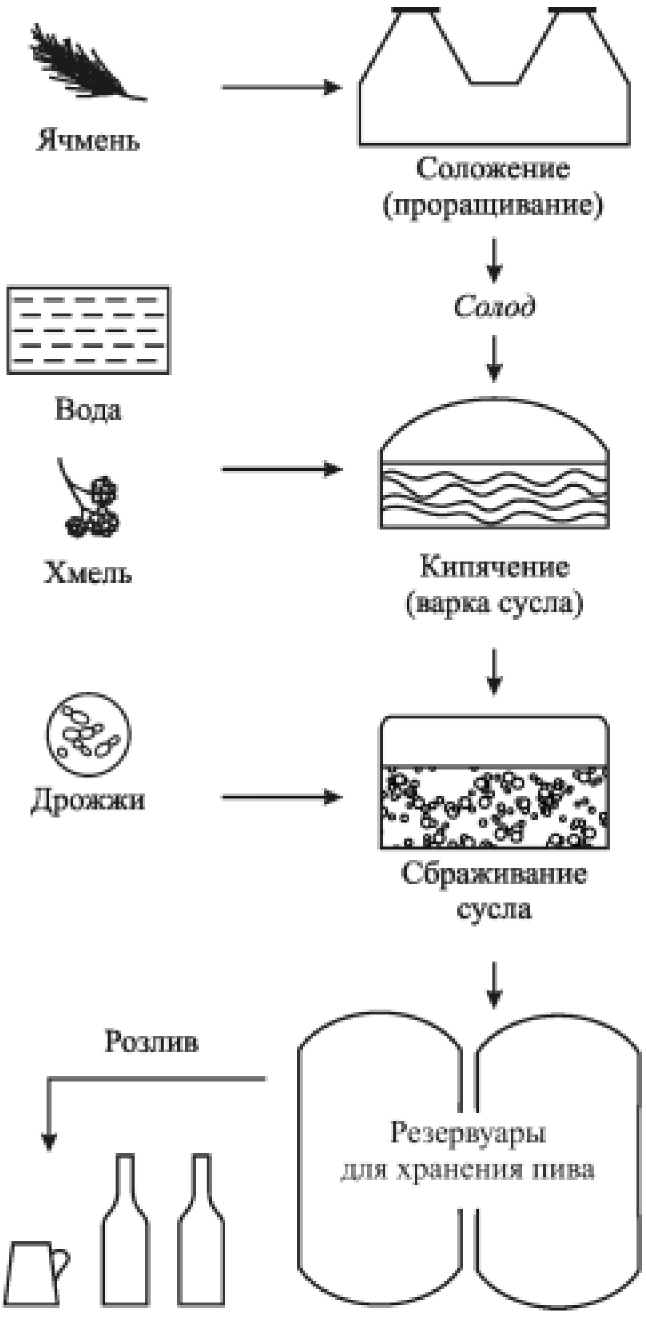


Рис. 51. Технологическая схема приготовления пива.

образуются окрашенные соединения, которые придают пиву характерный цвет. Высушенный солод размалывают, смешивают с водой и варят, в результате чего получается так называемое пивное **сусло**. В результате всех этих процессов часть крахмала исходного зерна гидролизуется до мальтозы, глюкозы и других сахаров, другая часть, фракция декстринов, не расщепляется и поэтому не утилизируется дрожжами и остается без изменений в течение всего последующего процесса брожения. Концентрация декстринов обусловливает плотность пива (светлое или темное). После осахаривания зерно высушивают, размалывают, кипятят, фильтруют и полученное пивное сусло сбраживают чистыми культурами дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

В пивоварении различают два типа брожения: верховое (теплое) и низовое (холодное). Вызывающие их дрожжи различаются рядом свойств и ранее рассматривались как различные виды: верховые *S. cerevisiae* и низовое *S. carlsbergensis*. Дрожжи низового брожения функционируют при температуре 6-10°C, в то время как верховое брожение протекает при 14-25°C. В конце брожения низовые дрожжи оседают на дно сосуда,

образуя плотный осадок, а верховые дрожжи всплывают на поверхность, образуя так называемую «шапку». Подъем дрожжей верхового брожения на поверхность обусловлен более интенсивным брожением, при котором образуются пузырьки углекислого газа, поднимающие дрожжевые клетки.

Важное технологическое свойство дрожжей, используемых в пивоварении - так называемая флоккуляционная способность. **Флоккуляция** - слипание клеток друг с другом на заключительных стадиях брожения, в результате чего образуются хлопья, быстро оседающие на дно сосуда. От флоккуляционной способности дрожжей в значительной степени зависят степень сбраживания сусла, осветление пива и количество собранных дрожжей в конце брожения. Для максимального превращения сахара в этанол необходимо, чтобы дрожжи оставались суспендированными в бродящей жидкости. С другой стороны, флоккуляция дрожжей после того, как брожение закончилось или достигло желаемой стадии, очень облегчает удаление дрожжей из напитка. Другими словами, дрожжи должны флоккулировать только на определенной стадии брожения. Хотя важность процесса флоккуляции в изготовлении алкогольных напитков была оценена уже более ста лет назад, физиологический механизм этого явления был изучен лишь в последние десятилетия. В слипании клеток участвуют присутствующие в растворе ионы двухвалентного кальция, взаимодействующие с карбоксильными и фосфодиэфирными группами на поверхности клеточных стенок дрожжей.

Хлебопечение. Все дрожжи, которые используются в хлебопечении, относятся к виду *Saccharomyces cerevisiae* и исторически происходят от штаммов пивных дрожжей. Мука обычно почти не содержит свободных сахаров, которые могут сбраживаться дрожжами. В низкосортной муке могут присутствовать ферменты, расщепляющие крахмал, однако в высокоочищенных сортах муки эти ферменты разрушены, и для заквашивания теста в муку приходится добавлять сахар. При брожении происходит интенсивное выделение CO_2, которая задерживается в тесте, заставляя его подниматься. Образующийся спирт удаляется в процессе выпечки.

Раньше дрожжи для хлебопечения получали с пивоварен. В конце XIX в. развилась целая отрасль по производству прессованных или сухих пекарских дрожжей. Современное производство пекарских дрожжей

имеет ряд существенных особенностей по сравнению с бродильной промышленностью. Основная цель такого производства - получение дрожжей, которые с высокой скоростью вырабатывают в тесте углекислый газ за счет брожения в анаэробных условиях. Однако производить их надо при хорошей аэрации, чтобы добиться большего выхода дрожжевой биомассы (эффект Пастера). Полученные дрожжи должны не только обладать высокой бродильной активностью в тесте, но и хорошо храниться, не теряя своих качеств в замороженном или высушенном состоянии. Пекарские дрожжи выращивают в больших сосудах при интенсивном перемешивании и аэрации. При этом питательная среда, основой которой обычно служит меласса, подается постепенно, или порциями. Если добавить сразу много сахара, то метаболизм дрожжей переключится на бродильный (эффект Кребтри) и выход биомассы уменьшится. По завершении роста дрожжи концентрируют центрифугированием и фильтруют. Образующийся на фильтре осадок можно превращать в брикеты прессованных дрожжей. Сухие дрожжи получают высушиванием массы в специальных распылительных сушилках.

Дрожжи в современной биотехнологии

Дрожжи как источник белка. Использование микробной биомассы для обогащения кормов белком и незаменимыми аминокислотами в условиях интенсивного животноводства - одна из важных проблем будущего, так как человечество развивается таким образом, что оно вряд ли сможет обеспечить себя пищей традиционными методами. Выращивание микроорганизмов не зависит от климатических и погодных условий, не требует посевных площадей, поддается автоматизации. Дрожжи - одна из наиболее перспективных групп микроорганизмов для получения белковых кормовых добавок. Содержание белка в клетках некоторых штаммов дрожжей составляет от половины до 2/3 сухой массы, на долю незаменимых аминокислот приходится до 10% (в белках сои, богатых лизином, его содержится не многим более 6%).

Впервые дрожжи стали рассматривать как источник питания в годы первой мировой войны в Германии, где их использовали в качестве добавки при изготовлении колбас. В первой половине XX в. возникла новая отрасль промышленности - производство белка одноклеточных орга-

низмов. В нашей стране производство кормовых дрожжей было начато в 30-х годах. Отходы сельского хозяйства, такие как солома, кукурузные кочерыжки, опилки, подвергали гидролизу серной кислотой, полученные гидролизаты нейтрализовали и использовали для выращивания дрожжей. Особенно привлекательным в этом производстве является использование возобновляемого сырья, особенно древесины, запасы которой в нашей стране пока достаточно велики. В большинстве этих отходов основным компонентом является целлюлоза, и в гидролизатах будет преобладать глюкоза, усваиваемая всеми без исключения видами дрожжей. Поэтому на гидролизатах можно выращивать самые разнообразные дрожжи, удовлетворяющие технологическим требованиям. В гидролизатах древесины присутствует также большое количество ксилозы, поэтому здесь желательно использование видов, утилизирующих пентозы. В то же время, транспорт сырья на гидролизные заводы оказывается дорогостоящим, поэтому в большинстве стран существуют только локальные мелкие производства кормовых дрожжей, что экологически и экономически более выгодно.

Первый в мире крупный завод кормовых дрожжей мощностью 70 000 т. в год. был пущен в 1973 г. в СССР. В качестве сырья на нем использовали выделенные из нефти н-алканы и несколько видов дрожжей, способных к быстрому росту на углеводородах: *Candida maltosa*, *Candida guilliermondii*, *Candida lipolytica*. В дальнейшем именно отходы от переработки нефти служили главным сырьем для производства дрожжевого белка, которое быстро росло и к середине 80-х гг. превысило 1 млн. т. в год, причем в СССР кормового белка получали вдвое больше, чем во всех остальных странах мира, вместе взятых. Этому способствовала организация большой научно-исследовательской работы. Были подробно изучены специфические особенности окисления и ассимиляции углеводородов, кинетические параметры роста, разработана технология их культивирования в крупных ферментерах объемом в сотни кубических метров. Однако в последующем масштабы производства дрожжевого белка на углеводородах нефти резко сократились. Это произошло как в результате экономического кризиса 90-х гг., так и из-за целого ряда специфических проблем, с которыми связано это производство. Одна из них - необходимость очистки готового кормового продукта от остатков нефти, имеющих канцерогенные свойства.

Другой пригодный вид сырья для производства микробного белка - метанол. На метаноле как на единственном источнике углерода и энергии способны расти около 25 видов дрожжей, в том числе *Pichia polymorpha*, *Pichia anomala*, *Yarrowia lipolytica*. Однако, более выгодным считается выращивание на метаноле метилотрофных бактерий, таких как *Methylophilus methylotrophus*, так как они используют одноуглеродные соединения более эффективно. Поэтому при росте на метаноле бактерии дают больше биомассы, чем дрожжи. Первая реакция окисления метанола у дрожжей катализируется оксидазой, а у метилотрофных прокариот - дегидрогеназой. Ведутся генноинженерные работы по переносу гена метанолдегидрогеназы из бактерий в дрожжи. Это позволит объединить технологические преимущества дрожжей с эффективностью роста бактерий.

В последнее время интенсивно изучаются дрожжи, обладающие гидролитическими ферментами и способные расти на полисахаридах без их предварительного гидролиза. Использование таких дрожжей позволит избежать дорогостоящую стадию гидролиза полисахаридсодержащих отходов. Известно более 100 видов дрожжей, которые хорошо растут на крахмале как на единственном источнике углерода. Среди них особенно выделяются два вида, которые образуют как глюкоамилазы, так и α-амилазы, растут на крахмале с высоким экономическим коэффициентом и могут не только ассимилировать, но и сбраживать крахмал: *Schwanniomyces occidentalis* и *Saccharomycopsis fibuliger*. Оба вида - перспективные продуценты белка и амилолитических ферментов на крахмалсодержащих отходах. Ведутся поиски и таких дрожжей, которые могли бы расщеплять нативную целлюлозу. Целлюлазы обнаружены у нескольких видов, например у *Trichosporon pullulans*, однако активность этих ферментов низкая и о промышленном использовании таких дрожжей говорить пока не приходится. Дрожжи из рода *Kluyveromyces* хорошо растут на инулине - основном запасном веществе в клубнях топинамбура - важной кормовой культуры, которая также может быть использована для получения дрожжевого белка.

Еще один субстрат, пригодный для получения кормового белка - молочная сыворотка, побочный продукт сыроварения. Молочная сыворотка содержит до 4% лактозы. Способность к ассимиляции лактозы имеет-

ся примерно у 20% всех известных видов дрожжей. Гораздо реже встречаются дрожжи, сбраживающие лактозу. Активный катаболизм лактозы особенно характерен для дрожжей из рода *Kluyveromyces*. Эти дрожжи можно использовать для получения на молочной сыворотке кормового белка, этанола, препаратов β-глюкозидазы.

Производство этанола. Этанол широко применяется в химической промышленности как исходное соединение для синтеза многих веществ, как растворитель, экстрагент, антифриз и т.п. Вероятно, у этанола большое будущее и как топлива в двигателях внутреннего сгорания: этанол - гораздо более экологически чистое топливо, чем бензин.

В принципе этанол можно получать из любого источника углеводов, которые сбраживаются дрожжами. Разнообразие потенциальных продуцентов тоже велико: более 200 видов дрожжей способны сбраживать глюкозу.

Крупномасштабное получение этанола в качестве топлива осуществляется в основном в Бразилии и других странах Южной Америки. В качестве источника углеводов используется сахарный тростник и маниока, в качестве продуцента этанола - *Saccharomyces cerevisiae*.

Перспективным сырьем для получения спирта являются отходы целлюлозно-бумажной и деревообрабатывающей промышленности. Однако, гидролизаты древесины содержат большое количество пентоз. До середины 70-х годов XX в. вообще не были известны дрожжи, активно сбраживающие пентозы. Сейчас такие виды найдены: *Pachysolen tannophilus* и *Pichia stipitis* (анаморфа - *Candida shehatae*). Им прочат большое будущее в производстве спирта из гидролизатов древесных отходов, соломы, торфа и т.п.

В небольших масштабах этанол можно получать и из других субстратов, например из молочной сыворотки, используя сбраживающие лактозу дрожжи из рода *Kluyveromyces*.

Различные продукты, получаемые из дрожжей. В последние десятилетия разнообразие биотехнологических процессов, в которых используются дрожжи, резко увеличилось. Еще более разнообразны перспективы использования дрожжей: в различных разработках, патентах и т.п. упоминается более 200 видов. Сейчас дрожжи используются для получения различных ферментных препаратов, органических кислот, по-

лисахаридов, многоатомных спиртов, витаминов и витаминных добавок, а также во множестве других мелкомасштабных процессах.

Промышленно важные **органические кислоты**, продуцируемые микроорганизмами, являются либо конечными продуктами (молочная, масляная, пропионовая кислоты у анаэробных бактерий), либо интермедиатами метаболизма. Последние можно получать с помощью дрожжей. В наибольших масштабах производится лимонная кислота, в основном с помощью *Aspergillus niger*, с использованием в качестве субстрата мелассы. Однако, ее можно получать и с помощью дрожжей *Yarrowia lipolytica* на более дешевых субстратах, таких как парафины нефти. Сейчас разработаны технологии получения и многих других кислот, например, изолимонной из *Candida catenulata*, фумаровой из *Candida hydrocarbofumarica*, яблочной из *Pichia membranaefaciens* и др.

Из дрожжевых **полисахаридов** наиболее популярен пуллулан, который получают из дрожжеподобного гриба *Aureobasidium pullulans*. Он представляет собой β-глюкан, в котором мальтотриозные остатки соединены между собой β (1→6) гликозидными связями. Пуллулан используется в основном в пищевой промышленности в качестве пленочного покрытия. Возможно получение разнообразных по строению и свойствам полисахаридов и из других видов дрожжей. Особенно много внеклеточных полисахаридов образуют дрожжи *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Lipomyces*.

Многоатомные спирты (глицерин, ксилит, эритрит, арабит) - широко применяются в химической и пищевой промышленности. Перспективным считается способ получения сахароспиртов, таких как глицерин, эритрит и ксилит, с использованием ксеротолерантных дрожжей *Zygosaccharomyces rouxii* и *Zygosaccharomyces bailii*. Эти дрожжи способны расти в средах с высоким осмотическим давлением, синтезируя при этом большое количество внутриклеточных полиолов, которые служат осмопротекторами. Другой способ касается получения ксилита - важного полиола для пищевой промышленности. Ксилит накапливается как побочный продукт при сбраживании ксилозы дрожжами *Pachysolen tannophilus*.

Многие дрожжи служат источниками для получения **ферментных препаратов**, которые используются в современной пищевой и химической промышленности. Из дрожжевого осадка, образующегося как отход

пивоварения, получают фермент β-фруктофуранозидазу (инвертазу), расщепляющий сахарозу на глюкозу и фруктозу. Препараты инвертазы широко применяются в кондитерской промышленности для предотвращения кристаллизации сахарозы, для приготовления инвертных сиропов. С помощью культур *Kluyveromyces marxianus* получают β-галактозидазу, которая применяется в молочной промышленности. Дрожжи *Yarrowia lipolytica* используются для получения липолитических ферментов, представляющих большой интерес для многих отраслей хозяйства. Липазы используются в сыроварении, в косметической промышленности, при выделке мехов и кож, в моющих средствах. В последние годы разработано множество способов получения самых различных ферментов из дрожжей: пектиназ из *Saccharomycopsis fibuliger*, амилаз из *Schwanniomyces occidentalis*, ксиланаз из *Cryptococcus laurentii*, гидролаз L-α-амино-ε-капролактама из криптококков, алкогольоксидазы из *Hyphopichia burtonii*, оксидазы D-аминокислот из *Trigonopsis variabilis*, фенилаланинаммиаклиазы из *Rhodotorula glutinis*.

Применение дрожжей как источников **витаминов** началось в 30-е годы. Одним из первых промышленных процессов получения витаминов было выделение эргостерина из *Saccharomyces cerevisiae* с последующим облучением ультрафиолетом для перевода в витамин D. Затем у дрожжей была открыта способность к сверхсинтезу некоторых витаминов группы B, в частности рибофлавина. Разработаны промышленные способы получения β-каротина из красных дрожжей. Кроме производства индивидуальных витаминов уже много лет в мире практикуется получение автолизатов и гидролизатов дрожжей, которые используются как источник витаминов и как вкусовые добавки.

СИСТЕМАТИКА ДРОЖЖЕЙ

Одноклеточная организация дрожжей накладывает столь существенный отпечаток на их внешний облик и на методы работы с ними, что систематика дрожжей долгое время развивалась вполне независимо от систематики мицелиальных грибов. Одно из важных отличий - широкое использование для классификации и идентификации дрожжей физиологических и биохимических признаков. До середины XX в. все одноклеточные грибы рассматривались в качестве достаточно обособленной таксономической группы аскомицетов. Последней точки зрения придерживался, например, В.И.Кудрявцев, автор отечественного определителя дрожжей, который предлагал объединять все дрожжи в самостоятельный порядок *Unicellomycetales*. В середине XX в. произошло принципиальное событие в систематике дрожжей, когда японскому микологу Исао Банно удалось индуцировать половой цикл размножения у гетероталличных красных дрожжей *Rhodotorula glutinis*. Полученные им характеристики жизненного цикла однозначно свидетельствовали о принадлежности этих дрожжей к гетеробазидиомицетам. Стало очевидным, что среди дрожжей имеются представители совершенно различных таксономических групп грибов, как аскомицетовых, так и базидиомицетовых. После этого большое внимание в систематике дрожжей стало уделяться поиску признаков, позволяющих разделить аскомицетовые и базидиомицетовые виды, даже без наблюдения полного жизненного цикла (так называемых признаков аффинитета). В систематике дрожжей стали активно использоваться биохимические и цитологические признаки.

Современный период изучения биологического разнообразия характеризуется интенсивным развитием филогенетической систематики, которая направлена на реконструкцию конкретных путей исторического развития организмов. В микробиологии филогенетическая систематика получила мощный импульс развития лишь в самом конце XX в. в связи со сравнительным изучением консервативных нуклеотидных последовательностей в рРНК. У дрожжей такая систематика строится главным образом на изучении двух участков рДНК длиной около 600 нуклеотидных пар: D1/D2 домена на 5′-конце гена, кодирующего 26S рРНК и внутреннего транскрибируемого спейсерного региона (ITS), включающего ген 5.8S рРНК. Считается, что вследствие консервативности этих участ-

ков различия между ними прямо пропорциональны филогенетическому расстоянию, степени эволюционного родства. Секвенирование неклеотидных последовательностей рДНК оказалось мощным инструментом для построения филогенетической классификации дрожжей, определения их места в общей системе грибов. К настоящему времени расшифрованы и помещены в компьютерные банки данных, доступные по сети Интернет, нуклеотидные последовательности рРНК у представителей всех известных видов дрожжей. Это позволило построить филогенетические деревья, отражающие эволюцию их рибосомальных генов. Оказалось, что группирование дрожжей на основе сходства нуклеотидных последовательностей рРНК во многих случаях не совпадает с группированием по фенотипическим признакам. Многие традиционные признаки, используемые в классификации дрожжей, такие как характеристики вегетативного размножения, форма аскоспор, способность к сбраживанию и ассимиляции сахаров, стали считаться ненадежными, не пригодными для определения филогенетического родства. Секвенирование рРНК (рДНК) сейчас считается необходимым при описании новых видов дрожжей.

Один из главных вопросов, который активно дискутировался до последнего времени, положение дрожжей в общей системе грибов. Являются ли они предковыми примитивными формами аско- и базидиомицетов, давшими начало более продвинутым и сложно организованным мицелиальным грибам, или вторично упростившимися, возникшими независимо в разных филогенетических линиях грибов в результате конвергенции? Окончательный ответ на этот вопрос был получен лишь недавно в результате развития молекулярно-филогенетической систематики. Сейчас считается окончательно доказанным полифилетическое происхождение дрожжей, их независимое возникновение среди аскомицетовых и базидиомицетовых грибов. После обнаружения базидиомицетовых дрожжей в зимологии возникло представление о дрожжах, как о чисто морфологической, или экоморфологической группе грибов (жизненной форме), лишенной таксономического содержания. В то же время, дрожжи встречаются лишь в некоторых филогенетических линиях грибов, в которых имеются также близкородственные виды, существующие в основном в мицелиальной форме. Примерами могут служить аскомицеты *Endomyces*, *Blastobotrys*, базидиомицеты *Tilletiopsis*, *Trichosporonoides*,

не образующие почкующихся одиночных клеток. Несмотря на отсутствие одноклеточных ассимилятивных стадий такие виды также включают в определители дрожжей, так как филогенетически они очень близки к «настоящим» одноклеточным дрожжам. Поэтому с точки зрения филогенетической систематики, целиком сводить понятие «дрожжи» только к одноклеточной жизненной форме грибов не представляется целесообразным.

Систематика дрожжей, поиск об их места в общей системе грибов продолжают активно развиваться, и в этой области еще не выработано устоявшихся, стабильных представлений. Тем не менее, со времени первых описаний сахаромицетов зимологами пройден очень большой путь в исследовании разнообразия дрожжевых грибов. Основные этапы этого пути отражены в серии определителей голландской зимологической школы, которые выходили с интервалом в 10-20 лет.

Концепция вида у дрожжей

Понятие вида - одно из сложнейших в биологии. Разработка концепции вида - особенно трудная задача в применении к микроорганизмам, в частности к грибам, по причине их плеоморфизма, сложности жизненных циклов, наличия стабильных несовершенных форм, неопределенности границ индивидуума и популяции.

В биологии термин «вид» используется в разных значениях. С одной стороны, о виде говорят как о наименьшей единице классификации, минимальном элементе разнообразия, который мы в состоянии распознать с помощью определенного набора таксономических признаков. Набор таких признаков, используемых в таксономии дрожжей, постоянно увеличивается, что позволяет выделять все более «мелкие» виды. В результате число известных видов дрожжей за последние десятилетия существенно возросло не только за счет обнаружения новых форм в природе, но и дробления уже известных «крупных», «гетерогенных» видов, характеризующихся значительной изменчивостью. Границы между видами при этом проводятся либо исходя из опыта и интуиции систематика (**типологическая концепция вида**), либо на основании явного соглашения между систематиками об уровне отличий, достаточном для выделения самостоятельного вида (**номиналистическая концепция**). В последнем случае вид - это не более чем абстракция, и границы вида уста-

навливаются исходя из чисто утилитарных представлений об определенном уровне общего сходства между штаммами дрожжей.

Наряду с этим в биологии существует и принципиально иное представление о виде, как о целостной, устойчивой и достаточно гетерогенной системе. При этом основное внимание уделяется не столько уровню различий между особями, сколько степени дискретности, отсутствию переходных форм между видами. Такая дискретность наиболее выражена у животных и растений, то есть организмов, размножающихся преимущественно половым путем. Обмен генами при половом размножении как раз и представляет собой механизм, поддерживающий целостность вида, а прекращение такого обмена приводит к возникновению дискретности разнообразия. Поэтому для животных и растений применима **биологическая концепция вида**: вид - это система популяций, генетически изолированных от популяций других видов и характеризующихся **интерфертильностью**, то есть способностью особей скрещиваться с образованием плодовитого потомства. Организмы разных видов не могут скрещиваться, или скрещиваются, но не дают плодовитого потомства. Такая концепция вида применима и ко многим грибам, у которых имеется половой процесс. Изучение интерфертильности играет существенную роль в определении границ видов и у совершенных дрожжей с хорошо выраженной половой стадией в жизненном цикле. Интерфертильность легко проверяется, если имеются штаммы, представляющие различные типы спаривания гетероталличных дрожжей. Однако гомоталлизм, вегетативное размножение в диплоидной стадии, агглютинация спор в аске - затрудняют применение интерфертильности для разграничения видов дрожжей. Применение биологической концепции вида к дрожжевым грибам осложняется и тем, что половое размножение у них не является обязательным и не играет такой же существенной роли в формировании разнообразия, как у высших животных и растений. Очевидно, биологическая концепция неприменима к несовершенным дрожжам, размножающимся только бесполым путем, и, возможно, полностью утерявшим половую стадию в ходе эволюции. У таких дрожжей выделение видов неизбежно носит номиналистический характер.

В связи с развитием молекулярно-филогенетической систематики в последнее время изменилось и представление о природе вида у дрож-

жей. Бурное развитие геносистематики привело к созданию и широкому внедрению новых методов, включая расшифровку и сравнение нуклеотидных последовательностей. Это породило надежды на создание абсолютно объективных технологий видовой идентификации. На первый план вышла концепция «элементарных» **монофилетических видов**, то есть таких групп штаммов, внутри которых полностью отсутствует филогенетическая структура, выявляемая на основании анализа нуклеотидных последовательностей в наиболее консервативных генах. Самостоятельность многих видов дрожжей стала активно пересматриваться с молекулярно-генетических позиций. Это вызвало определенное «высокомерие» по отношению к классическим представлениям о смысле выделения видов и видовой формы организации вообще. В связи со сложностью и дороговизной молекулярно-генетических методов возникла проблема практической недостижимости «правильной» видовой идентификации при проведении исследований, требующих массового определения большого числа штаммов, например, экологических, инвентаризационных, биоресурсных. Вместе с тем, на фоне сохраняющегося пиетета перед молекулярно-генетическими методами в последнее время появляется все больше свидетельств их недостатков, спорности некоторых положений, противоречий с эволюционно-филогенетическими концепциями. Иными словами, возникла проблема соотношения новейших молекулярных подходов к выделению видов с традиционными, основанными на морфологических и физиологических признаках. Решение этой проблемы должно определить развитие систематики дрожжей в ближайшем будущем.

Признаки и критерии, используемые в систематике дрожжей

Набор признаков, на основании которых выделяются виды у дрожжей, постоянно меняется в связи с принятием той или иной концепции вида, в результате пересмотра таксономической значимости признаков, с появлением новых методов и технологий. Систематика грибов до последнего времени основывалась главным образом на морфологических признаках, таких как пигментация, строение конидиеносцев, форма спор и т.п. Одноклеточные грибы не обладают такой сложной разнообразной морфологией, как мицелиальные. Поэтому уже с первых работ Хансена

и Клюйвера в 20-х гг. XX в. разделение видов дрожжей основывалось не только на морфологических, но и на физиологических признаках, таких как способность к сбраживанию и аэробной ассимиляции различных углеводов. Количество используемых для описания вида источников углерода и азота было значительно расширено в 50-е гг. Викерхэмом, который также разработал стандартные среды для постановки физиологических тестов. Эти критерии прочно вошли в практику классификации и идентификации дрожжей и используются до настоящего времени.

По своей природе признаки, используемые в систематике дрожжей, можно разбить на следующие группы.

Макроморфологические (культуральные) признаки, которые характеризуют рост штамма на различных средах. К ним относятся особенности роста в жидких средах (образование пленки, мути, осадка), формирование гигантской колонии и ее характеристики, образование плодовых тел.

Микроморфологические признаки - особенности клеточной морфологии (форма и размеры клетки, тип конидиогенеза, строение мицелия, формирование бесполых спор, способы половой репродукции).

Цитологические признаки - особенности строения клеток и клеточных структур, например, строение клеточной стенки, структура септ мицелия.

Физиологические признаки, определяющие тип питания и способность к росту в различных условиях. К ним относится определение способности к анаэробному сбраживанию или аэробной ассимиляции различных источников углерода, способность к росту при различных значениях pH, осмотического давления среды, устойчивость к различным ингибиторам роста.

Биохимические признаки, характеризующие химический состав клетки и отдельных ее компонентов: образование ферментов, специфических метаболитов, внеклеточных продуктов, например, моносахаридный состав внеклеточных полисахаридов.

Генетические признаки, включающие характеристики генома. Арсенал генетических признаков и методов их определения особенно расширился в последнее время в связи с интенсивным развитием молеку-

лярной биологии и стал играть ключевую роль в систематике дрожжей. К ним относятся нуклеотидный состав ДНК, степень гомологии ДНК у разных видов, наличие уникальных олигонуклеотидных последовательностей в геноме, последовательность нуклеотидов в определенных генах.

Экологические признаки, определяющие характер распространения вида в природных местообитаниях, а также чувствительность или резистентность к различным экологическим факторам, патогенные свойства.

Для выявления всех этих признаков разработаны стандартные методы, описываемые в определителях или специальных руководствах.

Морфологические характеристики, имеющие наибольшее значение для дифференциации родов дрожжей, были подробно рассмотрены выше. Для разделения видов у дрожжей традиционно использовались в основном физиологические характеристики - способность к росту на различных источниках углерода и азота. Некоторые цитологические и биохимические критерии, разработанные в последние десятилетия, сыграли особенно большую роль в классификации дрожжей на родовом и надродовом уровне, значительно изменив представления об их группировании и филогении. Эти признаки имеет смысл рассмотреть более подробно.

Моносахаридный состав клеточных стенок. Изучение полисахаридов, которые составляют клеточную стенку и капсулу, оказало существенное воздействие на систематику и преставления о филогении дрожжей. Характеристика моносахаридного состава полисахаридов клеточных стенок используется главным образом для дифференциации дрожжей на родовом и надродовом уровне. В то же время, детальные исследования химического состава клеточной стенки были проведены лишь у небольшого числа видов дрожжей. Наиболее подробно исследовано строение клеточной стенки *Saccharomyces cerevisiae* и нескольких близких аскомицетовых видов.

Как уже отмечалось, аскомицетовые почкующиеся дрожжи содержат в качестве главного структурного компонента клеточной стенки $\beta(1\rightarrow3)$-глюкан. Другой существенный компонент - комплекс белка и глюкоманнана. Оказалось, что боковые цепи этих полисахаридов, особенно маннана, существенно варьируют по моносахаридному составу у раз-

ных видов дрожжей. Моно- и олигосахариды, образовавшиеся при кислотном гидролизе углеводов клеточной стенки, можно разделить с помощью гельфильтрации. Другой способ, применявшийся для характеристики полисахаридов - сравнение спектров протонного магнитного резонанса, который позволяет определять пропорции и размер боковых цепей в различных маннанах. Считается, что сходные спектры протонного магнитного резонанса клеточных маннанов указывают на близкое родство видов. Эти характеристики оказались очень полезными для классификации дрожжей, например, для группирования родственных видов в многовидовых сборных анаморфных родах типа *Candida*.

Наряду с глюканом и маннаном почкующиеся аскомицетовые дрожжи содержат около 1-2 % хитина, который почти полностью локализован в областях шрамов почкования. Однако небольшое количество хитина (около 0.1 %) рассеяно по всей клеточной стенке. Напротив, дрожжи базидиомицетового аффинитета характеризуются намного более высоким содержанием хитина (до 10 %). Таким образом, это различие можно использовать в качестве таксономического признака для разделения аскомицетовых и базидиомицетовых анаморф. Кроме того, оказалось, что содержание хитина в стенках некоторых мицелиальных аскомицетовых дрожжей, например, у видов *Saccharomycopsis*, значительно выше, чем у истинных одноклеточных дрожжей, таких как *Saccharomyces cerevisiae*.

Наиболее отличным по моносахаридному составу оказался состав клеточной стенки делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces*. Виды этого рода содержат в дополнение к β-глюканам другой главный структурный полисахарид, а именно $\alpha(1\rightarrow3)$-глюкан. Маннан *Schizosaccharomyces* также отличается по строению от маннана почкующихся дрожжей, главным образом присутствием галактозных остатков. Это позволило предположить, что делящиеся дрожжи имеют уникальный состав клеточной стенки и не родственны другим группам аскомицетовых дрожжей. Позднее это предположение было подтверждено данными по сравнению нуклеотидных последовательностей рРНК.

Еще большее значение играют характеристики моносахаридного состава клеточных стенок в систематике базидиомицетовых дрожжей. Особенно ценным считается такой признак, как присутствие или отсутствие D-ксилозы в клеточной стенке или в экстрактах целых клеток. По этому

признаку все гетеробазидиомицетовые дрожжи были разбиты на две группы: спороболомицетовые (отсутствует ксилоза и часто содержится фукоза), которые включают виды родов *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Sporobolomyces*, и филобазидиевые (содержат ксилозу и обычно глюкуроновую кислоту), включающие роды *Bullera*, *Cryptococcus*, *Filobasidium*, *Phaffia* и некоторые виды *Trichosporon*. Такое разделение также подтверждается другими молекулярно-биологическими критериями.

Несмотря на несомненную важность такого признака, как состав углеводов клеточной стенки, следует подчеркнуть, что он не является решающим критерием в систематике дрожжей, а ценен только в комбинации с другими хемотаксономическими и молекулярными признаками, включая анализ последовательности рРНК. Такой полифазный подход для создания надежной таксономической системы поддерживается большинством систематиков.

Тип кофермента Q. Дрожжи и дрожжеподобные грибы содержат в качестве одного из компонентов цепи переноса электронов кофермент Q, или убихинон (рис. 52). Убихиноны - группа соединений, в которых к 2,3-диметоксил-5-метилбензоксихинону присоединена в 6 положении боковая цепь из нескольких изопреноидных остатков. У известных гомологов кофермента Q количество изопреноидных остатков варьирует от 5 до 10. По количеству изопреноидных остатков различают до шести типов кофермента Q от Q-5 до Q-10. У базидиомицетовых дрожжей обнаружен также дигидрогенированный гомолог кофермента Q с насыщенной двойной связью в изопреноидных остатках, обозначаемый как Q-10 (H_2). Кофермент Q выделяют с помощью тонкослойной хроматографии из гексанового экстракта гидролизованных клеток дрожжей. Для определения типа кофермента Q используют различные хроматографи-

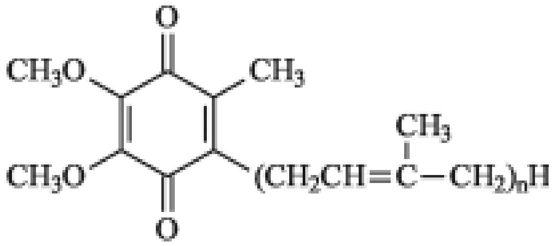


Рис. 52. Кофермент Q (убихинон); количество изопреноидных остатков варьирует от 5 до 10 .

ческие методы, включая жидкостную, тонкослойную и бумажную хроматографию, а также масспектрометрию.

Тип кофермента Q оказался очень полезным признаком для классификации дрожжей и дрожжеподобных грибов. Прежде всего, он различен у аскомицетовых и базидиомицетовых дрожжей. У первых преобладают убихиноны с 5-7 изопреноидными остатками (Q-5 - Q-7), у вторых - с 8-10 (Q-8 - Q-10). Однако, имеются и исключения, например, убихинон Q-10 обнаружен у представителей родов *Lipomyces* и *Schizosaccharomyces*. Особенно важную роль сыграл тип кофермента Q в классификации анаморфных дрожжей на родовом уровне. Считается, что этот признак не должен существенно варьировать внутри рода и отличия по типу кофермента Q достаточно для отнесения видов к разным родам в том случае, когда это сопровождается и другими существенными различиями, например, по морфологическим признакам. Определение типа кофермента Q, вместе с изучением моносахаридного состава клеточных стенок сыграло решающую роль в переклассификации родов анаморфных баллистоспоровых дрожжей (*Bensingtonia*, *Bullera*, *Sporobolomyces*, *Udeniomyces*), дрожжей, характеризующихся образованием почек на стеригмах (*Sterigmatomyces*, *Fellomyces*, *Kurtzmanomyces*). Все эти роды характеризуются одним типом кофермента Q. В то же время, в таких родах, как *Cryptococcus*, *Candida*, тип кофермента Q варьирует по видам, что подтверждает их условность и филогенетическую гетерогенность.

Ультраструктура септовых пор. Развитие методов электронной микроскопии позволило использовать для классификации дрожжей ряд цитологических признаков. Выше уже были рассмотрены такие характеристики, как ультраструктура клеточной стенки, цитологические особенности образования почки (голобластическое и энтеробластическое почкование), которые оказались различными у аскомицетовых и базидиомицетовых дрожжей. Еще одним важным цитологическим признаком является ультраструктура септ мицелия у диморфных дрожжеподобных грибов (рис. 53). Деление клеток мицелия начинается с образования тонкого кольца на клеточной мембране. Кольцо начинает центростремительно расти и разделяет клетку. Затем на внешней поверхности мембраны откладывается вновь синтезируемый материал клеточной стенки, формируя септу. Детальные исследования, проведенные с помощью электронной микроскопии, показали, что ультраструктура этих септ существен-

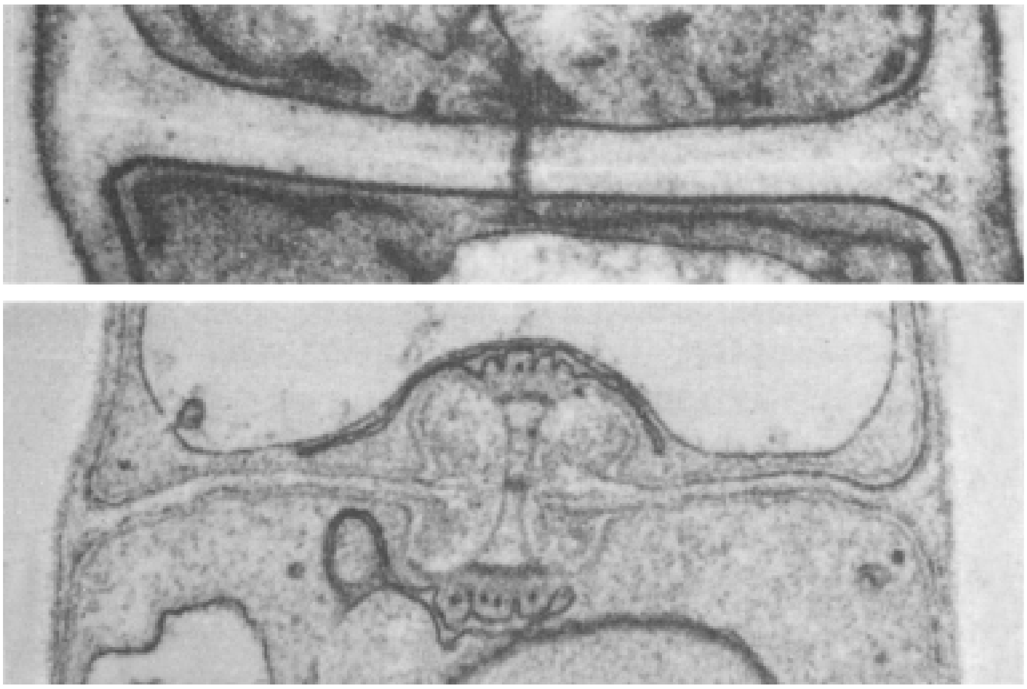


Рис. 53. Строение септовых пор в мицелии дрожжеподобных грибов: 1 – Yarrowia lipolytica, септа с простой порой, 2 – Filobasidiella neoformans, септа с долипорой.

но различается у разных групп грибов и может служить хорошим критерием для их филогенетической классификации.

В гифах аскомицетовых дрожжеподобных грибов септы в основном гомогенные и электроннопрозрачные. В септах имеются поры, которые достаточно велики для прохода ядер. С обеих сторон поры часто располагаются мелкие мембранные пузырьки, так называемые тельца Воронина. Гифы дрожжеподобных грибов рода *Ambrosiozyma* имеют септы с сильно утолщенным центральным участком. У некоторых дрожжеподобных грибов в центре сформированной септы имеется лишь очень узкий мембранный канал, так называемая микропора. У других видов в септе могут формироваться множественные каналы - плазмодесмы. Наличие таких плазмодесм явилось важным свидетельством о наличии филогенетической связи анаморфного рода *Zygozyma* с семействами Lipomycetaceae и Dipodascaceae.

У большинства базидиомицетовых дрожжей в центре септы формируется пора, имеющая сложное строение: края септы раздуты в виде тора, а с двух сторон поры имеются характерные мембранные образования -

парентосомы. В некоторых исследованиях было показано, что тороидально раздувшиеся септы (долипоры) на самом деле представляют собой артефакт химической фиксации, используемой при подготовке образцов к электронной микроскопии. Такие бочкообразные вздутия отсутствовали в образцах, подготовленных с помощью быстрого замораживания. Тем не менее, эти артефакты четко воспроизводятся у одних и тех же видов, коррелируют с другими таксономическими признаками и поэтому могут использоваться в систематике. Тонкое строение комплекса долипор и парентосом служит важным диагностическим признаком для классификации базидиомицетовых дрожжеподобных грибов.

Схема стандартного описания вида у дрожжей

Для описания видов у дрожжей разработан стандартный набор признаков. Приведенная ниже схема используется для характеристики видов в определителях дрожжей и при публикации статей с описанием новых видов. Для описания морфологии дрожжей и постановки физиологических тестов используются специальные среды стандартного состава.

Рост в жидком сусле: образование пленки, кольца и осадка в 30-суточной культуре; форма клеток и способ вегетативного размножения в 3-суточной культуре, размеры клеток.

Рост на сусло-агаре или морфологическом агаре: описание штриха на 30-е сутки культивирования, морфологии клеток в 3-суточной культуре; описание гигантской колонии.

Рост на пластинках с картофельным или кукурузным агаром: образование истинного мицелия, псевдомицелия, артроспор, хламидоспор.

Образование и форма баллистоспор.

Описание жизненного цикла: гомо- или гетероталлизм, образование асков или базидий, способ диплоидизации, число и форма аскоспор, скорость их освобождения из асков.

Брожение сахаров: спектр сбраживания из 5-10 источников (глюкоза, галактоза, сахароза, мальтоза, лактоза, раффиноза, трегалоза).

Ассимиляция источников углерода: спектр из 30-40 источников (глюкоза, галактоза, L-сорбоза, сахароза, мальтоза, целлобиоза, трегалоза, лактоза, мелибиоза, раффиноза, мелецитоза, инулин, крахмал, D-ксилоза, L-арабиноза, D-арабиноза, D-рибоза, L-рамноза, D-глюкозамин,

N-ацетил-D-глюкозамин, метанол, этанол, глицерин, эритрит, рибит, дульцит, D-маннит, D-сорбит, α-метил-D-глюкозид, салицин, D-глюконат, DL-лактат, сукцинат, цитрат, инозит, гексадекан, нитраты, нитриты, рост без витаминов, 2-кето-D-глюконат, 5-кето-D-глюконат, сахарат, ксилит, L-арабит, арбутин, пропан-1,2-диол, бутан-2,3-диол и др.).

Ассимиляция источников азота (KNO_3, KNO_2, кадаверин, креатинин, L-лизин, этиламин).

Рост в среде без витаминов. В случае отсутствия роста - определение потребности в конкретных витаминах (биотин, тиамин, пиридоксин, парааминобензойная кислота, инозит).

Рост на средах с высоким осмотическим давлением, осмотолерантность и галотолерантность (рост в средах с 50 и 60% глюкозы, с различной концентрацией NaCl, на среде с 10% NaCl и 5% глюкозы).

Температурные границы роста, рост при 25, 28, 34, 37, 40°С.

Выделение крахмалоподобных соединений.

Устойчивость к циклогексимиду.

Гидролиз мочевины.

Расщепление арбутина.

Разжижение желатины.

Гидролиз жира.

Образование органических кислот.

Образование эфиров.

Моносахаридный состав внеклеточных полисахаридов.

Тип кофермента Q.

Описание может быть дополнено другими характеристиками, такими как ассимиляция более широкого круга соединений, устойчивость и чувствительность к киллерным токсинам различных видов, уровень гомологии ДНК с близкими видами, результаты ПЦР анализа ДНК, нуклеотидные последовательности D1/D2 и ITS участков рДНК и др. В описание обязательно должны быть включены сведения о том, когда и откуда выделены исследуемые дрожжи и на каком количестве штаммов проведено изучение.

Диагноз вида, составленный по этой схеме, должен быть приведен в публикации с описанием нового вида на языке публикации, а также на латинском языке.

Особенности систематики анаморфных дрожжей

Аскомицетовые и базидиомицетовые грибы легко отличить по характеру полового размножения: формированию эндогенных спор в асках у аскомицетов и экзогенных спор на базидиях у базидиомицетов. Аналогичные структуры формируют при половом размножении и дрожжевые грибы. Поэтому особую сложность для классификации представляют анаморфные дрожжи, у которых отсутствует половая стадия в жизненном цикле. Формально такие грибы относят к особому классу *Deuteromycetes*, однако по сути они представляют собой лишь стадии в полном жизненном цикле аскомицетов или базидиомицетов. Половое размножение у таких дрожжей может отсутствовать по разным причинам. Во-первых, многие дрожжи гетероталличны, и для осуществления полового процесса необходимы штаммы разных типов спаривания. В чистой культуре таких дрожжей, представленной только одним типом спаривания, половое размножение невозможно. Во-вторых, половой процесс может запускаться лишь в определенных условиях, например, при наличии определенных химических факторов, которые могут отсутствовать в лабораторной среде. Наконец, у многих видов способность к половому размножению, по-видимому, вообще утеряна в ходе эволюции.

По совокупности морфологических и физиологических признаков, которые использовались на первых этапах развития систематики дрожжей, отличить аскомицетовые и базидиомицетовые дрожжи в анаморфном состоянии было практически невозможно. Это привело к тому, что некоторые крупные роды несовершенных дрожжей включали анаморфы как аскомицетов, так и базидиомицетов. В первую очередь это относится к роду *Candida*, описанному в 1923 г. Диагноз рода был очень расплывчатым: «Немногочисленные гифы, стелющиеся, распадающиеся на короткие и длинные фрагменты. Конидии, возникающие путем почкования из гиф или на вершине одна другой, мелкие и бесцветные». Под такое описание подходили самые различные дрожжеподобные грибы, и поэтому в дальнейшем оказалось возможным включение в этот род многих видов, явно неродственных друг другу. К 1970 г., в котором был выпущен полный определитель дрожжей дельфтской школы, количество видов, включенных в род *Candida*, возросло до 81, и он стал самым многовидовым родом среди дрожжей.

Второй по числу видов дрожжевой род *Torulopsis* существовал с 1895 г. и объединял аспорогенные дрожжи, не соответствующие описанию рода *Candida* только по одному признаку - отсутствию способности к образованию субстратного септированного или псевдомицелия. При росте на плотных средах мицелиальность настолько меняет облик дрожжевой колонии, что на начальном этапе систематики дрожжей, когда основной упор делался именно на морфологические характеристики, этому признаку безусловно был придан статус родового. Однако с увеличением разнообразия описанных видов стало ясно, что способность к образованию псевдомицелия - крайне ненадежный, сильно варьирующий в зависимости от штамма и от условий культивирования признак, имеющий низкую таксономическую ценность. В связи с этим в 1978 г. было предложено объединить роды *Candida* и *Torulopsis* в один род. Это было осуществлено в следующем издании определителя дрожжей, где был представлен единый род *Candida*, включающий 196 видов и заведомо полифилетический. Наиболее вескими аргументами полифилетичности рода были обнаружения совершенных стадий для некоторых видов *Candida*, которые, как оказалось, соответствовали различным родам известных аскоспоровых дрожжей. Такие пары анаморфа - телеоморфа включали, например *Candida famata - Debaryomyces hansenii*, *C. pulcherrima - Metschnikowia pulcherrima*, *C. robusta - Saccharomyces cerevisiae* и др. В 1966 г. новозеландская исследовательница Ди Менна описала три новых вида *Candida gelida*, *C. nivalis*, *C. frigida*, выделенные ею из антарктических почв. Всего несколько лет спустя у этих дрожжей также были обнаружены совершенные стадии, которые свидетельствовали об их принадлежности к базидиальным грибам. Таким образом, род *Candida* оказался группой несовершенных дрожжей, объединяющей анаморфы как аскомицетов, так и базидиомицетов.

После доказательства полифилетической природы таких крупных дрожжевых родов, как *Candida*, в зимологии начался активный поиск признаков, которые могли бы дифференцировать анаморфы аско- и базидиомицетов. К настоящему времени в систематике дрожжей используется целый набор таких признаков аффинитета (табл. 3), благодаря которым все дрожжи удается четко разбить на две группы - аскомицетовые и базидиомицетовые, независимо от телеоморфного или анаморфного состояния культуры.

Таблица 3. Признаки, дифференцирующие аско- и базидиомицетовые дрожжи.

Признак	Аскомицетовые	Базидиомицетовые
Синтез каротиноидов	Не синтезируют	Некоторые синтезируют
Содержание ГЦ в ДНК, мол.%	< 50 (26-48)	> 50 (44-70)
Ультраструктура клеточной стенки	Слоистая	Ламеллярная
Тип конидиогенеза	Голобластический	Энетробластический
Структура септовых пор	Простые септы без парентосом	Сложные септы с парентосомами
Лизис клеточной стенки экзо-β-1,3-глюканазой	Образуют протопласты	Не образуют протопластов
Тип кофермента Q	6-9	8-10
ДНК-азная активность	Есть	Нет
Пальмитиновая кислота в липидах	Много	Отсутствует
Углеводы в гидролизатах целых клеток	Глюкоза - манноза, глюкозамин (следы)	Глюкоза, глюкозамин, ксилоза или фукоза
Окраска колоний диазониевым синим (DBB)	Не окрашиваются	Темно-красные
Тест на уреазу	Отрицательный	Положительный

Развитие методов секвенирования рРНК окончательно решило проблему определения аффинитета несовершенных дрожжей. Одно из главных преимуществ систематики, основанной на сравнении нуклеотидных последовательностей консервативных генов - возможность классификации на одной и той же основе как совершенных видов дрожжей, обладающих полным жизненным циклом, так и их анаморф.

Классификация дрожжей

В этом разделе приводятся краткие характеристики наиболее известных родов дрожжевых грибов. Некоторые из них, такие как *Saccharomyces*, *Candida*, *Cryptococcus*, имеют уже давнюю историю, и хотя на протяжении десятилетий объем и содержание этих родов существенно менялись

в зависимости от используемых признаков и принимаемых таксономических концепций, они прочно утвердились в системе дрожжей и стали общепризнанными. Другие описаны лишь в последние годы, многие на основании изучения единичных штаммов, и не исключено, что в дальнейшем они будут переописаны или объединены с другими родами. Тем не менее, некоторые из таких родов также рассматриваются ниже для составления общей картины современных представлений о разнообразии дрожжей. Классификация дрожжей на уровне семейств и порядков разработана очень слабо. За основу приводимой ниже классификации взято последнее издание определителя дрожжей (Kurtzman C.P., Fell J.W. (eds.) The Yeasts, a taxonomic study. Fourth revised and enlarged edition. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1998).

Аскомицетовые дрожжи

Традиционно все аскомицетовые грибы разделяли на два таксономических класса: Hemiascomycetes, или голосумчатые грибы, и Euascomycetes (настоящие аскомицеты). Первые не образуют плодовых тел, и аски у них располагаются непосредственно на мицелии, или в виде одиночных клеток, тогда как эуаскомицеты, за немногими исключениями (например, род *Eremascus*), обычно формируют аски внутри или на поверхности специальных плодовых тел (аскокарпов), образованных грибной тканью - густым скоплением мицелия. Ранее все аскомицетовые дрожжи помещали в группу гемиаскомицетовых в качестве самостоятельного порядка Endomycetales. Кроме настоящих дрожжей к эндомицетовым относили и некоторые голосумчатые грибы, не образующие одноклеточных вегетативных форм, а также диморфные дрожжеподобные грибы, иногда с очень слабо выраженной дрожжевой фазой, например *Ascoidea*, *Cephaloascus*, *Dipodascus*. Дальнейшее разделение эндомицетовых дрожжей на семейства и роды проводилось прежде всего на основании таких признаков, как способ вегетативного размножения, тип полового процесса и форма аскоспор. Например, дрожжи рода *Schizosaccharomyces* выделяются на основании вегетативного размножения делением, а не почкованием, роды *Hanseniaspora*, *Nadsonia*, *Saccharomycodes* - размножения биполярным почкованием на широком основании, роды *Saccharomyces*, *Pichia*, *Metschnikowia*, *Williopsis* характеризуются шаровидной, шляповидной, игловидной и сатурновидной формой аскоспор соответственно.

Кроме эндомицетовых к гемиаскомицетам формально относили еще одну группу грибов, составляющую отдельный порядок Taphrinales. Все представители этого порядка - облигатные паразиты растений, образующие аски не в плодовых телах, а плотным слоем под кутикулой растения-хозяина. Аскоспоры некоторых видов тафриновых способны почковаться, формируя сапротрофную дрожжевую фазу. Однако тафриновые существенно отличаются от остальных гемиаскомицетов тем, что в цикле их развития преобладает дикариотическая фаза, так же, как у базидиомицетовых грибов. К тафриновым очень близки представители рода *Protomyces*, все члены которого также являются фитопатогенными грибами, но способны образовывать сапротрофные дрожжевые стадии.

Среди эуаскомицетов способность к вегетативному размножению в одноклеточной форме встречается очень редко. Наиболее известны так называемые «черные дрожжи», характеризующиеся накоплением меланоидных пигментов, которые придают их колониям черный цвет.

Внедрение в таксономическую практику биохимических и молекулярно-биологических методов, особенно проведенный в последнее время анализ нуклеотидных последовательностей рРНК, существенно изменило представления о филогенетической классификации аскомицетовых дрожжей. Эти исследования подтвердили разделение аскомицетов на две главные филетические линии: гемиаскомицетовых и эуаскомицетовых. Наряду с этим обнаружилось, что дрожжи рода *Schizosaccharomyces* по нуклеотидным последовательностям рРНК наиболее близки к тафриновым и вместе с ними образуют группу дрожжевых грибов, предковую по отношению к остальным аскомицетам. Эта группа грибов была названа архиаскомицетами (древними аскомицетами). Таким образом, все аскомицетовые дрожжи в настоящее время распределяются по трем классам: Archiascomycetes, Hemiascomycetes и Euascomycetes (табл. 4).

Класс Archiascomycetes

Класс архиаскомицетовых был предложен японскими исследователями Нишидой и Сугиямой в 1993 г. для группы грибов, которые существенно отличались как от эуаскомицетов, так и от гемиаскомицетов по нуклеотидным последовательностям рРНК. Он включает всего несколь-

Таблица. 4. Классификация аскомицетовых дрожжей.

Класс Archiascomycetes

Порядок Schizosaccharomycetales

Schizosaccharomyces

Порядки Taphrinales и Protomycetales

Taphrina (анаморфа - *Lalaria*)
Protomyces
Saitoella
Pneumocystis

Класс Hemiascomycetes

Порядок Saccharomycetales

Семейство Ascoideaceae

Ascoidea

Семейство Cephaloascaceae

Cephaloascus

Семейство Dipodascaceae

Dipodascus
Galactomyces
Sporopachydermia
Stephanoascus
Wickerhamiella
Yarrowia
Zygoascus

Семейство Endomycetaceae

Endomyces

Семейство Eremotheciaceae

Eremothecium
Coccidiascus

Семейство Lipomycetaceae

Babjevia
Dipodascopsis
Lipomyces
Zygozyma

Семейство Metschnikowiaceae

Clavispora
Metschnikowia

Семейство Saccharomycetaceae

Arxiozyma
Citeromyces
Cyniclomyces
Debaryomyces
Dekkera
Issatchenkia
Kluyveromyces
Lodderomyces
Pachysolen
Pichia (=*Hasenula*)
Saccharomyces
Saturnispora
Torulaspora
Williopsis
Zygosaccharomyces

Семейство Saccharomycodaceae

Hanseniaspora
Nadsonia
Saccharomycodes
Wickerhamia

Семейство Saccharomycopsidaceae

Ambrosiozyma
Saccharomycopsis

Класс Euascomycetes

Oosporidium
«Черные дрожжи»

Анаморфные роды

Aciculoconidium
Arxula
Blastobotrys
Botryozyma
Brettanomyces
Candida
Geotrichum
Kloeckera
Myxozyma
Schizoblastosporion
Sympodiomyces
Trigonopsis

ко родов: *Schizosaccharomyces*, *Taphrina*, *Protomyces*, *Saitoella* и *Pneumocystis*. Кроме сходства рибосомальных генов их объединяют и некоторые фенотипические свойства, в частности, наличие в цикле развития дикариотической фазы, особенно хорошо выраженной у тафриновых и протомицетовых. Возможно, архиаскомицеты являются предковыми формами современных аскомицетов.

Порядок Schizosaccharomycetales

Schizosaccharomyces

Клетки от круглых до цилиндрических. Вегетативное размножение делением. Могут формироваться истинные гифы, которые распадаются на артроспоры. Аски формируются из копулирующих клеток. Аскоспоры круглые или овальные, у разных видов от 4 до 8 в аске, иногда освобождаются из асков на ранних стадиях (рис. 54). Активно сбраживают сахара. Используются в бродильной промышленности, преимущественно в странах жаркого климата.

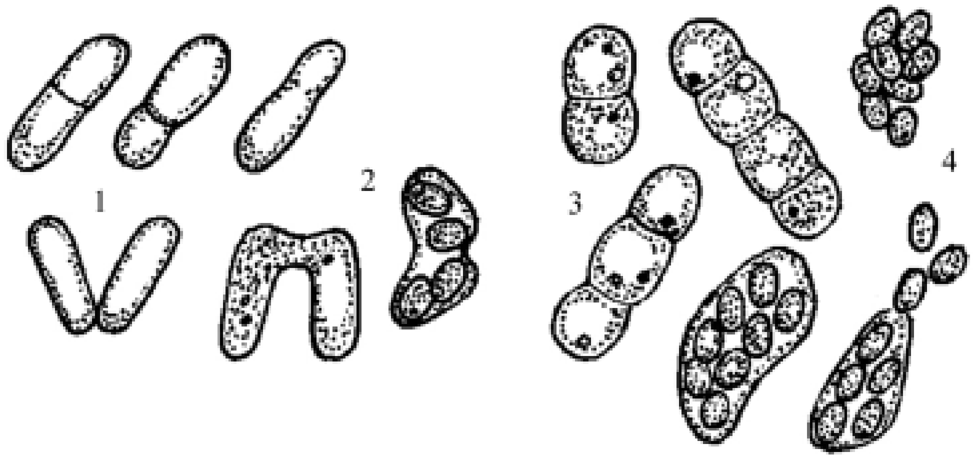


Рис. 54. Schizosaccharomyces: 1, 2 – S. pombe, 3, 4 – S. octosporus; 1, 3 – вегетативные делящиеся клетки, 2, 4 – аски со спорами.

Порядки Taphrinales и Protomycetales

Диморфные грибы с телеоморфной мицелиальной и анаморфной дрожжевой фазами. В мицелиальной фазе являются облигатными высокоспециализированными паразитами растений, в то время как дрожжевая стадия развивается сапротрофно на мертвых органических остатках.

Taphrina

Дикариотический, вначале несептированный мицелий развивается в тканях растения-хозяина. В зрелых гифах отделяются двухъядерные аскогенные клетки, в которых происходит кариогамия, после чего клетки начинают удлиняться. В это время диплоидное ядро делится митотически, одно дочернее ядро остается около основания клетки, а другое перемещается к растущей верхушке. Между двумя ядрами формируется септа и из верхней клетки образуется аск с восемью аскоспорами. Аски формируют палисадный слой выше эпидермы растения-хозяина (рис. 55), их присутствие придает поверхности листьев характерный восковой блеск. Аскоспоры могут почковаться непосредственно в аске. Аскоспоры, или

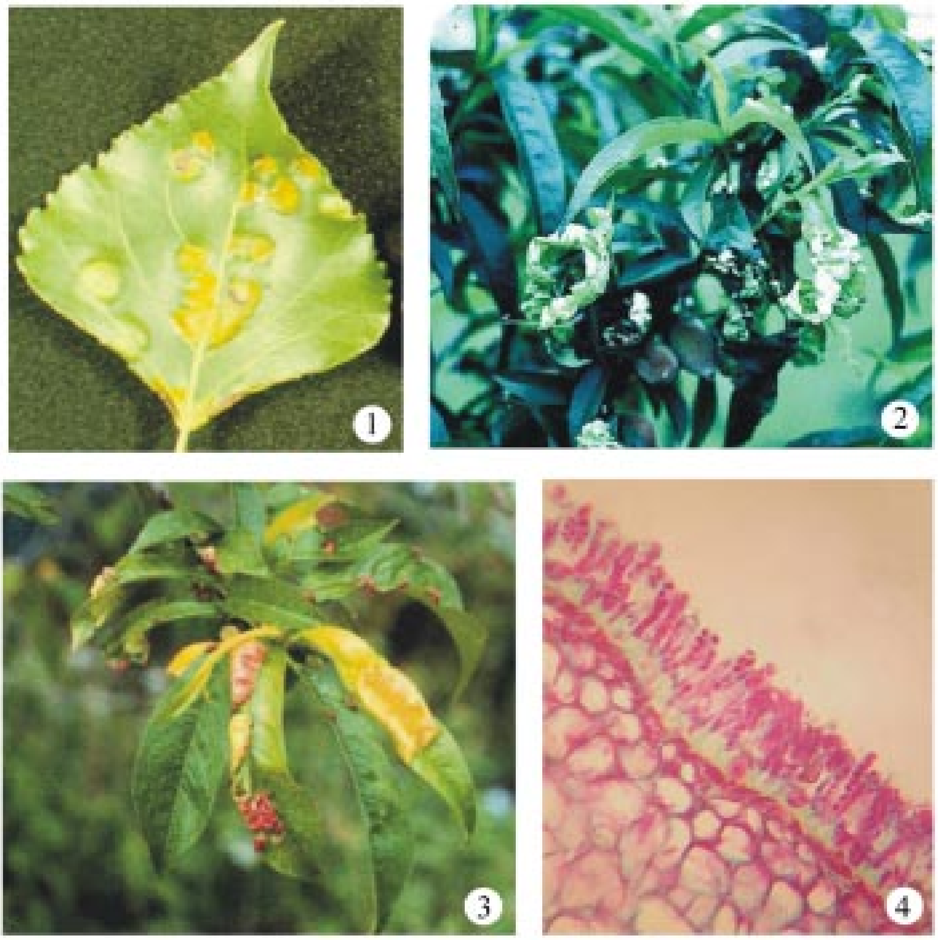


Рис. 55. Taphrina: 1-3 – поражения растений различными видами: 1 – T. populina на листе осины, 2 – курчавость листьев персика, вызываемая T. deformans, 3 – T. deformans на сливе, 4 – палисадный слой асков T. deformans на поверхности листа.

их почки освобождаются из аска через образующийся продольный разрез. Рассеивающиеся аскоспоры способны к вегетативному размножению почкованием. В течение лета и осени такие почкующиеся споры могут формировать дрожжеподобные колонии на ветках растения-хозяина. Эти колонии перезимовывают в щелях коры или между почечной чешуей. Споры прорастают на молодых листьях и заражают их, снова формируя мицелий в тканях листа. Большинство видов гомоталличны, но некоторые гетероталличны. У последних дикариотический мицелий развивается только после конъюгации клеток в тканях растения.

Анаморфные почкующиеся стадии некоторых видов *Taphrina* получены в виде чистых культур. Для таких анаморф предложено отдельное родовое название - *Lalaria*. При росте на лабораторных средах виды *Lalaria* формируют розоватые или иногда желтоватые колонии за счет присутствия каротиноидов. Почкование голобластическое. Не сбраживают сахара, образуют внеклеточные крахмалоподобные соединения.

Protomyces

Диплоидная мицелиальная паразитическая стадия развивается в тканях растения хозяина. На мицелии формируются толстостенные сферические структуры, так называемые аскогенные клетки, в которых происходит мейоз. Образовавшиеся гаплоидные ядра многократно делятся и формируются аски, содержащие 50-200 эллипсоидальных аскоспор. Аскоспоры освобождаются через щелевидное отверстие в аскогенной клетке. Аскоспоры способны почковаться, формируя гаплоидную дрожжевую стадию. Дрожжевые клетки противоположных типов спаривания копулируют с восстановлением диплоидного состояния, из зиготы развивается диплоидный мицелий, способный заражать новые растения.

При росте дрожжевой фазы на плотных средах образуются колонии оранжевые, желтовато-розоватые за счет каротиноидных пигментов. Сахара не сбраживают. Образование крахмалоподобных соединений варьирует.

Класс Hemiascomycetes

Грибы, вегетативно размножающиеся почкованием, или гифальным ростом, с последующей фрагментацией гиф. Гифы всегда септированные, септы гиф с микропорами, простыми порами или с долипорами,

как у базидиомицетов, но без парентосом. Клеточные стенки содержат слои глюкана и маннана. Половой процесс - слияние гаметангиев, соматогамия или педогамия. В отличие от базидиомицетов и других аскомицетов, у гемиаскомицетовых отсутствует дикариотическая фаза и после половой конъюгации клеток непосредственно следует кариогамия с образованием диплоидной клетки. Диплоидная зигота либо непосредственно превращается в аск, либо вегетативно размножается почкованием или делением гифальных клеток. В последнем случае мейоз происходит позже, обычно при исчерпании питательных веществ в среде или в результате специфической индукции. Плодовые тела не образуются.

Порядок Saccharomycetales

После выделения из гемиаскомицетовых класса Archiascomycetes в классе Hemiascomycetes остался один порядок Saccharomycetales (ранее Endomycetales). Таким образом, к этому порядку в настоящее время относят все аскомицетовые дрожжи, за исключением рассмотренных выше делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces* и гаплоидных стадий фитопатогенов из родов *Taphrina* и *Protomyces*, а также некоторых дрожжеподобных грибов, встречающихся среди представителей класса Euascomycetes. Деление сахаромицетовых на семейства еще вызывает много сомнений и не исключено, что оно существенно изменится в дальнейшем после более детальных исследований. Представленное ниже деление на семейства и роды основывается на комбинации морфологических и молекулярно-биологических признаков. При этом наряду с достаточно четко очерченными монофилетическими родами, такими как *Ambrosiozyma*, *Nadsonia*, *Dekkera*, *Lipomyces* и др., имеются и заведомо сборные многовидовые роды, которые выделяются лишь на основании определенных морфологических признаков. Таков род *Pichia*, а также многие анаморфные роды аскомицетового аффинитета (прежде всего *Candida*), рассмотренные ниже. Молекулярно-биологические исследования показали, что эти роды распадаются на многочисленные клады, родственные различным группам аскомицетовых дрожжей.

Семейство Ascoideaceae

Ascoidea

Диморфные грибы, образующие слизистые или пастообразные колонии с обильным, широко разрастающимся мицелием по краю. В ос-

новном истинные септированные гифы с бластоконидиями на небольших выростах, могут присутствовать также почкующиеся клетки и псевдомицелий. Аски формируются на гифах латерально или терминально, эллипсоидальные или вытянутые, содержат множество аскоспор, которые освобождаются через отверстие на вершине аска (рис. 56). После освобождения спор из аска на этом же месте образуется новый аск, прорастая через остатки старого. Аскоспоры овальные, со смещенным ободком. Сахара не сбраживают. Встречаются в буровой муке насекомых-ксилофагов, в слизетечениях и на коре деревьев.

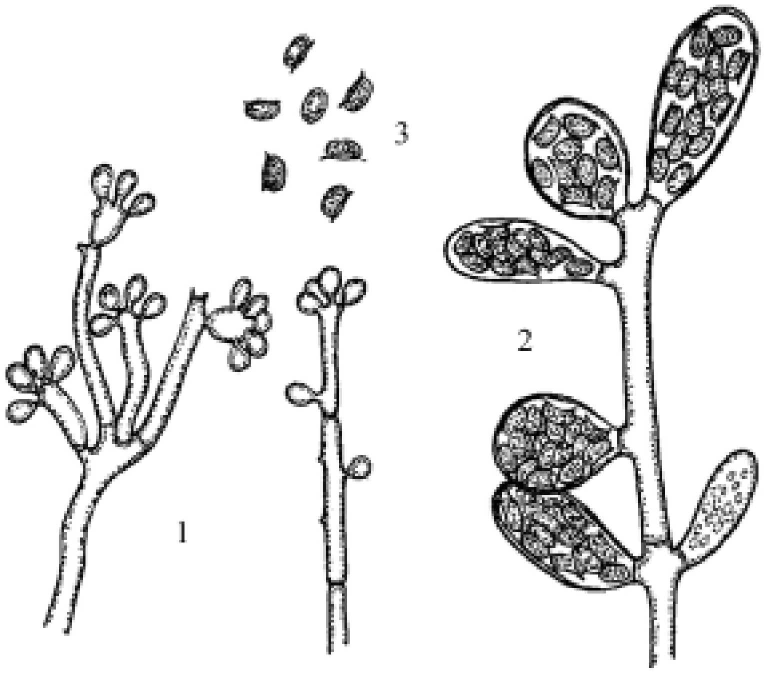


Рис. 56. Ascoidea: 1 – гифы с пучками конидий, 2 – аски на мицелии, 3 – аскоспоры, освободившиеся из аска.

Семейство Cephaloascaceae

Cephaloascus

Дрожжеподобные грибы, с преобладанием истинного септированного мицелия, но почкующиеся клетки и псевдомицелий также могут присутствовать. Конидии образуются симподиально, на выростах, в коротких цепочках. Аски образуются на вершине прямых неветвящихся

гиф, собраны в мутовки (рис. 57). Аски овальные, тонкостенные, открываются отверстием на вершине. Аскоспоры шляповидные, по 4 в аске. В природе встречаются в разлагающейся древесине, по-видимому, ассоциированы с насекомыми-ксилофагами.

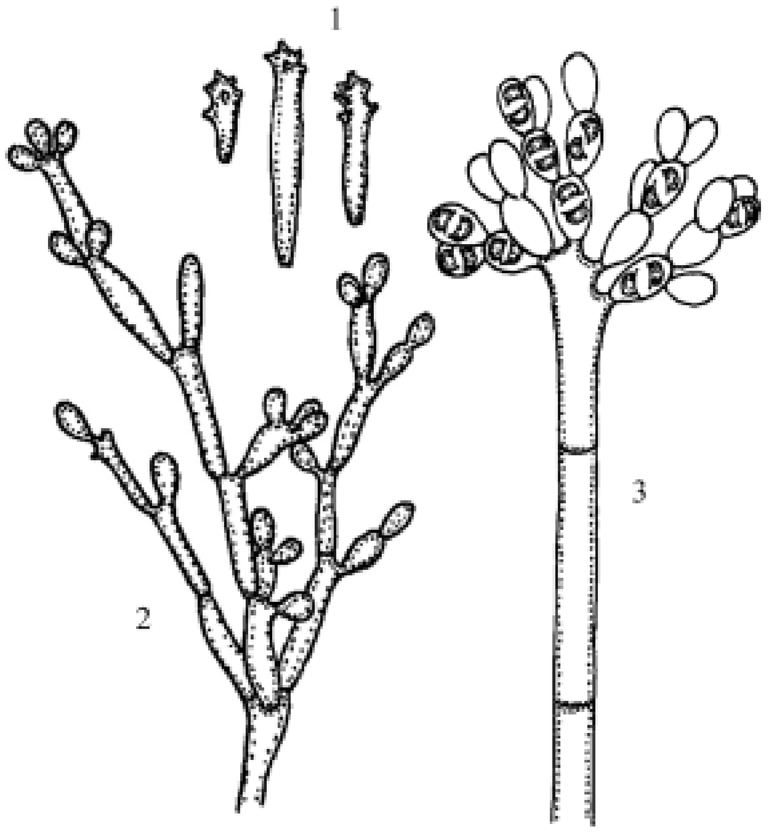


Рис. 57. Cephaloascus: 1 – клетки с зубчиками, оставшимися от конидий, 2 – псевдомицелий, 3 – аски на мицелии.

Семейство Dipodascaceae

Dipodascus

Дрожжеподобные грибы, формирующие обильный мицелий, распадающийся на цилиндрические артроконидии. Аски игловидные, цилиндрические или эллипсоидальные, образуются после слияния гаметангиев, расположенных латерально на гифах (рис. 58). Аски открываются отверстием на вершине. Аскоспоры эллипсоидальные, с гладкой поверхностью, окружены слизистой оболочкой. Брожение обычно отсутствует. Анаморфные стадии классифицируются в роде *Geotrichum*.

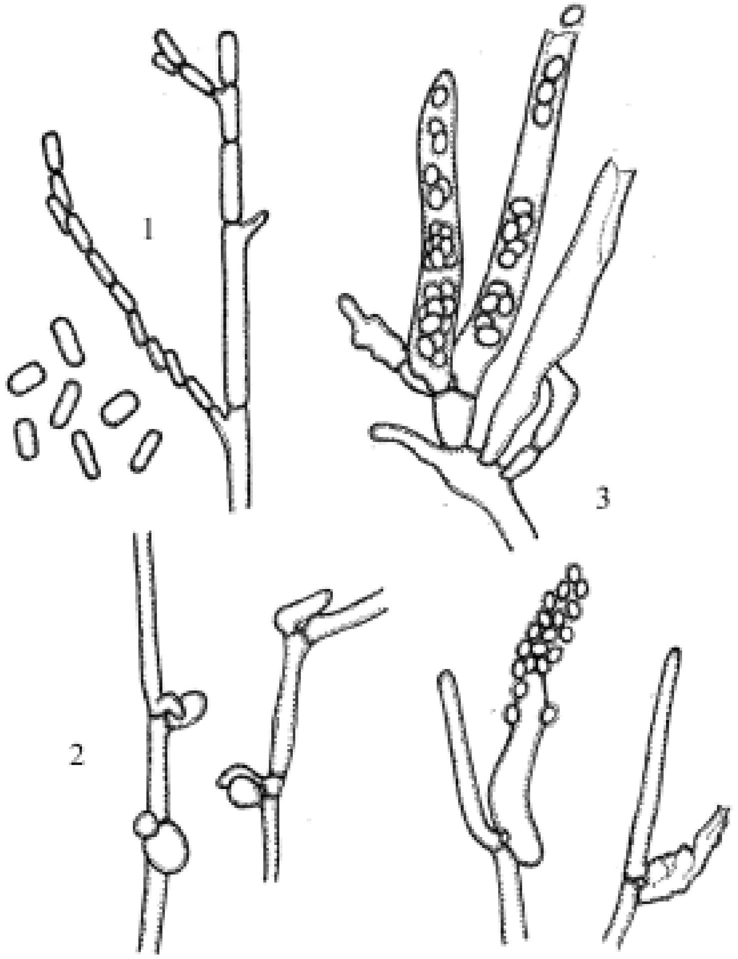


Рис. 58. Dipodascus: 1 – мицелий, распадающийся на артроконидии, 2 – слияние гаметангиев, 3 – аски с освобождающимися аскоспорами.

Galactomyces

Обильный истинный мицелий, распадающийся на артроспоры, почкующиеся клетки отсутствуют. Половой процесс - копуляция гаметангиев, которые образуются латерально на часто септированном мицелии. В месте копуляции двух гаметангиев, расположенных с противоположных сторон септы, образуется аск (рис. 59). Аски сферические, содержащие одну, редко две аскоспоры, которыя освобождаются после разрушения стенки аска. Аскоспоры круглые, коричневатые, толстостенные, покрытые экзоспориумом и с экваториальной бороздкой. Брожение слабое или отсутствует. Анаморфные стадии классифицируется в роде *Geotrichum*.

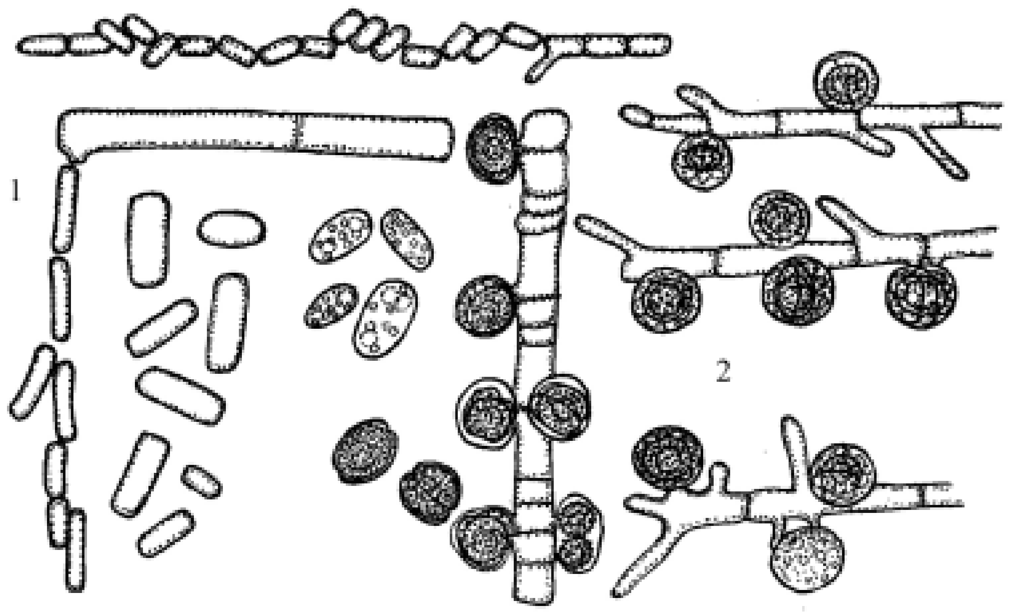


Рис. 59. Galactomyces: 1 – мицелий, распадающийся на артроконидии (Geotrichum), 2 – мицелий с асками.

Sporopachydermia

Клетки овальные или удлиненные, иногда искривленные. Вегетативное размножение многосторонним истинным почкованием. Мицелий или псевдомицелий не образуют. Культуры при росте на плотных средах имеют сильный неприятный запах. Формированию асков предшествует конъюгация клеток, у многих штаммов спорообразование может происходить и без конъюгации. Аски круглые или овальные, содержат 1-4 аскоспоры (рис. 60). Аскоспоры сферические, эллипсоидальные или палочковидные, обычно покрыты плотным, рефрактирующим покровом. После освобождения из аска остаются склеенными вместе. Брожение слабое или отсутствует.

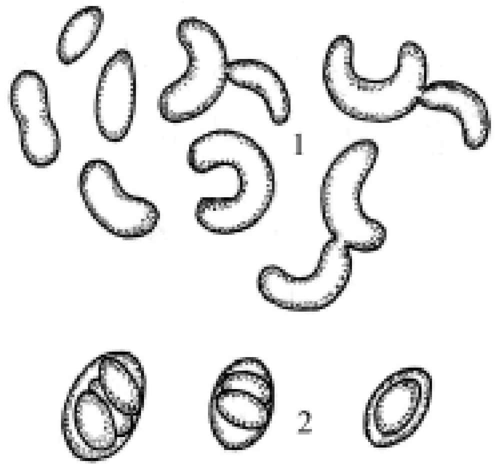


Рис. 60. Sporopachidermia: 1 – почкующиеся клетки, 2 – аски со спорами.

Stephanoascus

Дрожжеподобные грибы, вегетативно размножаются многосторонним почкованием одиночных клеток (анаморфы в этом случае классифицируются в роде *Candida*) или формированием коротких цепочек конидий, собранных в гроздья на истинных гифах (анаморфный род *Blastobotrys*). Половой процесс - копуляция гаметангиев, которые образуются на гифах из двух интеркалярных клеток или латеральных выростов соседних гиф. Аски круглые с утолщенной клеточной стенкой, содержат 2-4 аскоспоры (рис. 61). На верхушке аска имеется стерильная клетка. Аскоспоры сплющенные с боков, шляповидные или шлемовидные. Могут сбраживать сахара.

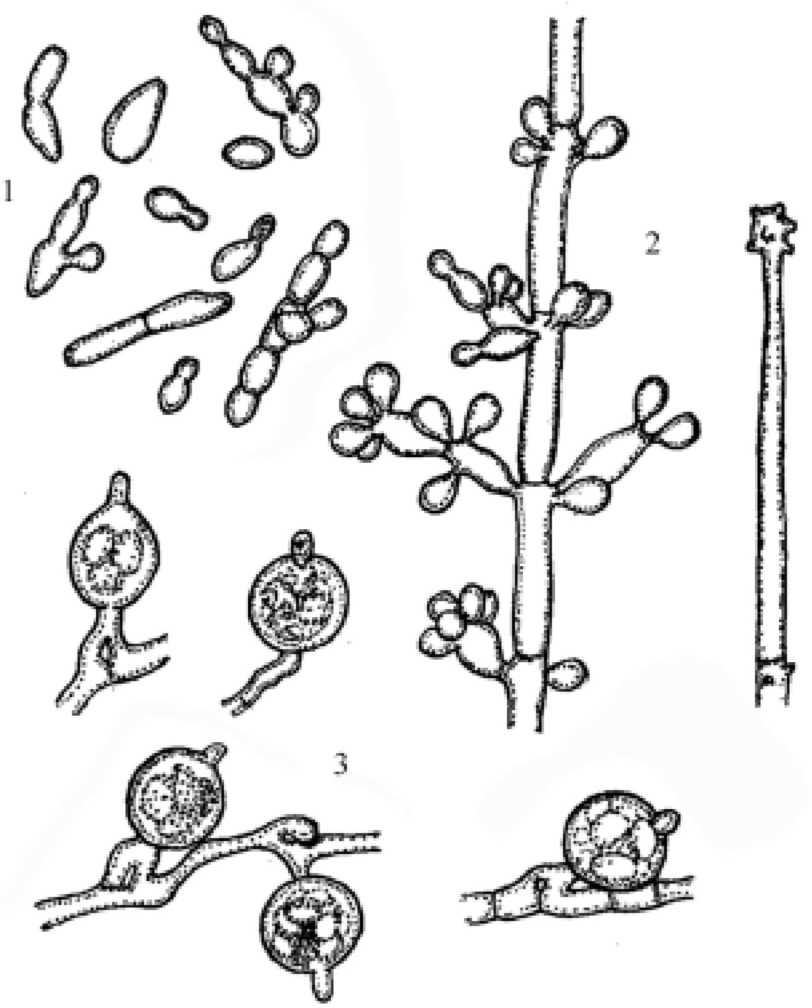


Рис. 61. Stephanoascus: 1 – почкующиеся клетки, 2 – мицелий с бластоконидиями, 3 – аски на мицелии.

Wickerhamiella

Клетки мелкие, круглые или эллипсоидальные, вегетативное размножение почкованием на узком или широком основании. Мицелий или псевдомицелий не образуют. Гомоталличны. Аски образуются после конъюгации двух независимых клеток. В аске одна аскоспора, овальная, с шероховатой поверхностью (рис. 62). Аскоспоры освобождаются через отверстие, образующееся на вершине аска, после чего аски сморщиваются. Сахара не сбраживают.

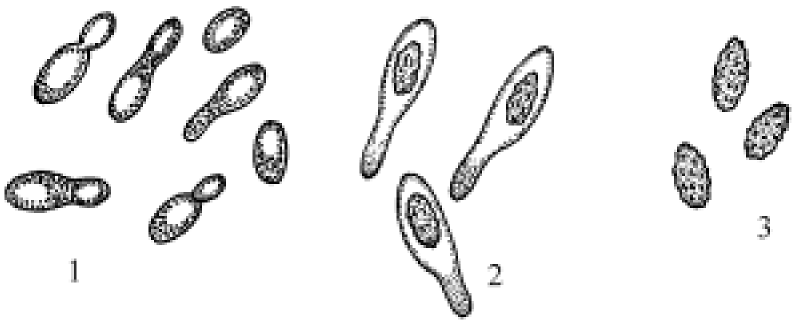


Рис. 62. Wickerhamiella: 1 – вегетативные клетки, 2 – аски с одной спорой, 3 – аскоспоры.

Yarrowia

Клетки круглые, эллипсоидальные или удлиненные. Бесполое размножение - многосторонним почкованием на узком основании. Образуется псевдомицелий и истинный мицелий, который иногда может распадаться на артроспоры. Аски неконъюгативные, образуются из диплоидных клеток гиф (рис. 63). Оболочка аска быстро растворяется. В аске 1-4 аскоспоры, шаровидные, полусферические или шляповидные. Сахара не сбраживаются. В роде один вид *Y. lipolytica*, известный своей способностью к интенсивному образованию липолитических и протеолитических ферментов.

Zygoascus

Клетки круглые, яйцевидные, цилиндрические, почкование многостороннее на узком основании. Образуют псевдомицелий и истинный мицелий с бластоспорами. Аски формируются после слияния клеток гиф.

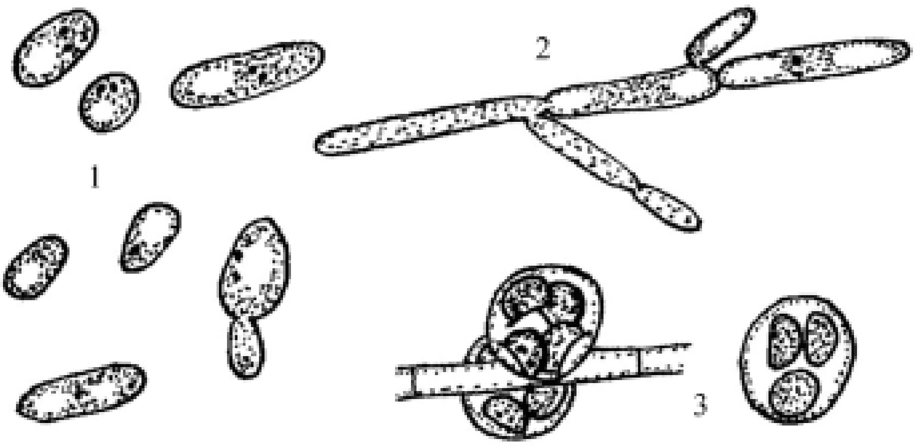


Рис. 63. Yarrowia lipolytica: 1 – почкующиеся клетки, 2 – псевдомицелий, 3 – аски с аскоспорами.

Аски обратнояйцевидные, сферические, долгоживущие, содержат 1-4 полусферических аскоспоры (рис. 64). Сахара не сбраживает.

Семейство Endomycetaceae

Endomyces

Хорошо развитый истинный мицелий, легко распадающийся на артроспоры. На мицелии также могут формироваться конидии в виде коротких цепочек. Иногда образуются хламидоспоры. Почкующиеся клетки отсутствуют. Половой процесс - копуляция гаметангиальных концов гиф. Аски круглые, овальные или булавовидные, тонкостенные, открываются отверстием на вершине, содержат 2-12 аскоспор (рис. 65). Аскоспоры эллипсоидальные, уплощенные с одной стороны или шлемовидные за счет смещенного слизистого ободка. Паразитируют на других грибах. Аспорогенные формы классифицируются в роде

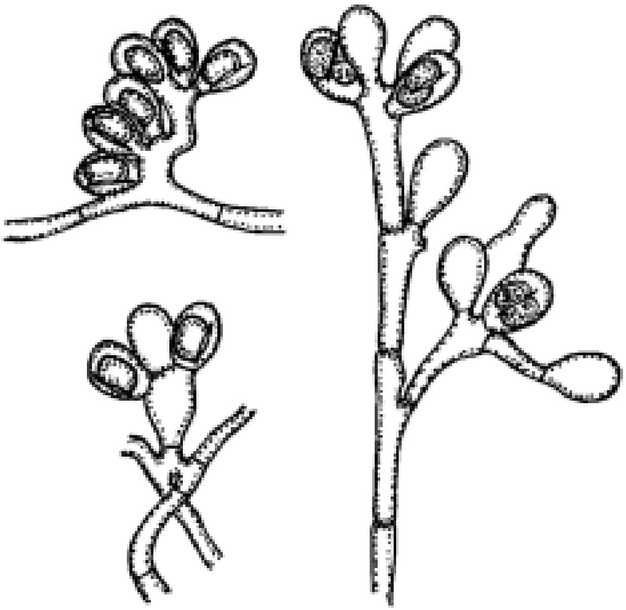


Рис. 64. Zygoascus: аски со спорами.

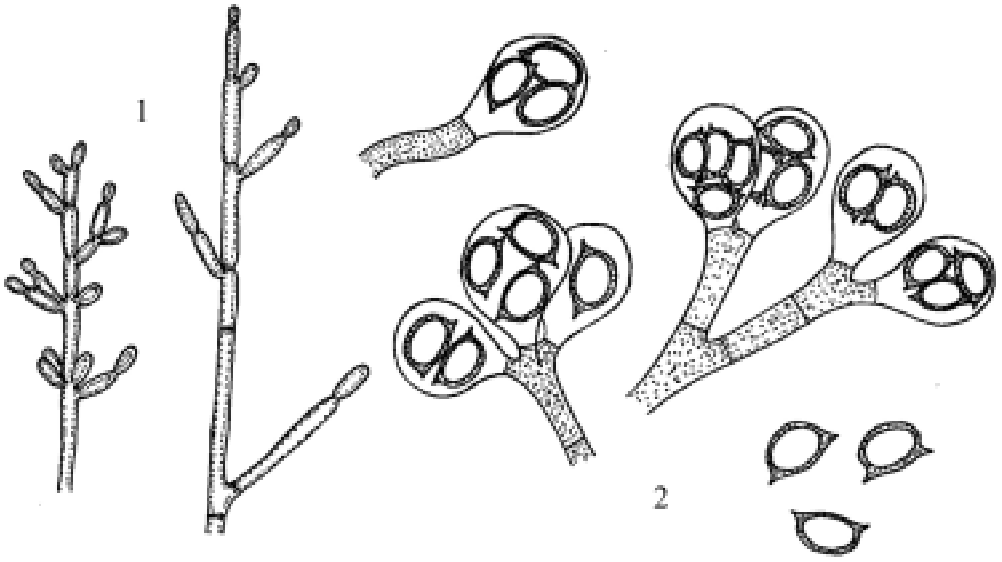


Рис. 65. Endomyces: 1 – мицелий и псевдомицелий, 2 – аски со спорами.

Geotrichum. К роду *Endomyces* очень близки некоторые другие редкие роды дрожжеподобных микопаразитических грибов: *Helicogonium*, *Myriogonium*, *Phialoascus*, *Trichomonascus*.

Семейство Eremotheciaceae

Eremothecium

Дрожжевые клетки крупные, овальные или цилиндрические, размножаются многосторонним почкованием. У некоторых видов почкующиеся клетки отсутствуют. Обычно формируют истинный редкосептированный или ложный мицелий с бластоконидиями. Аски образуются из продолговатых вегетативных клеток или клеток мицелия без предварительной конъюгации и вскоре после созревания разрушаются с освобождением спор. Аскоспоры по 8-32 в аске, веретеновидные, игловидные, с хлыстовидными придатками, у некоторых видов могут иметь поперечную септу и вздутие в центральной части (рис. 66). В основном паразиты на растениях. Ранее виды рода *Eremothecium* классифицировались также в нескольких самостоятельных родах: *Ashbya*, *Holleya*, *Nematospora*, которые были объединены на основании сходства нуклеотидных последовательностей рРНК.

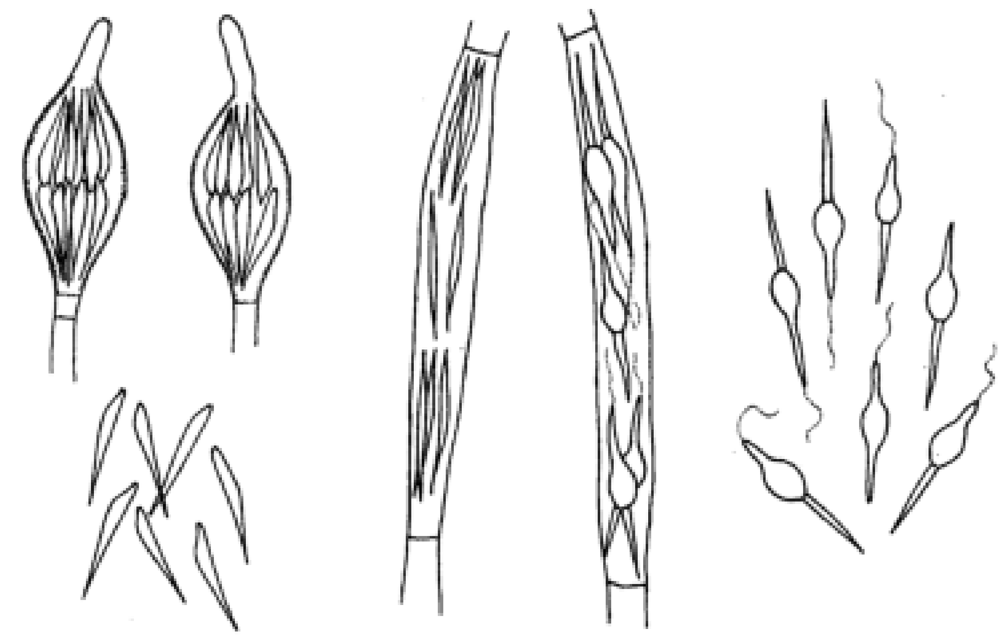


Рис. 66. Eremothecium: аски и освободившиеся аскоспоры у разных видов.

Coccidiascus

Внутриклеточные паразиты, обитающие в клетках эпителия кишечника дрозофил. Клетки сферические или овальные, размножаются почкованием. Мицелий или псевдомицелий не образуют. Вегетативные клетки трансформируются в удлиненные банановидные толстостенные аски, содержащие до 8 аскоспор. Аскоспоры веретеновидные, несколько сжатые с боков. На питательных средах не растут.

Семейство Lipomycetaceae

Характерная особенность представителей этого семейства - мешковидные аски, которые образуются в результате слияния двух почек одной клетки (или выростов мицелия у *Dipodascopsis*). Сахара не сбраживают.

Babjevia

Культуры медленнорастущие, визуальные признаки роста на плотных средах при комнатной температуре появляются только через 5-7 суток. У свежевыделенных культур молодые клетки имеют причудливые выросты. При периодических пересевах морфология клеток быстро меняется. В 10-суточных культурах клетки круглые или овальные, почко-

вание многостороннее, на широком основании, большинство клеток объединено в цепочки примитивного псевдомицелия. В старых культурах часто встречаются крупные клетки с многочисленными (до15-20) почками. Капсул не образуют. Образованию асков обычно предшествует копуляция почек на одной или соседних клетках. Аски мешковидные, иногда образуются сразу по 2-3 и более на одной материнской клетке (рис. 67). Число спор в аске варьирует от 4 до 30 и более. Споры круглые, с неровной складчатой поверхностью. Включает один вид *B. anomala*. Всего было выделено 8 штаммов этого вида из образца торфянисто-подзолистой глееватой почвы в районе г. Сыктывкара. Первоначально вид был описан как *Lipomyces anomalus*. Выделен в качестве самостоятельного рода на основании отличий в нуклеотидных последовательностях рРНК.

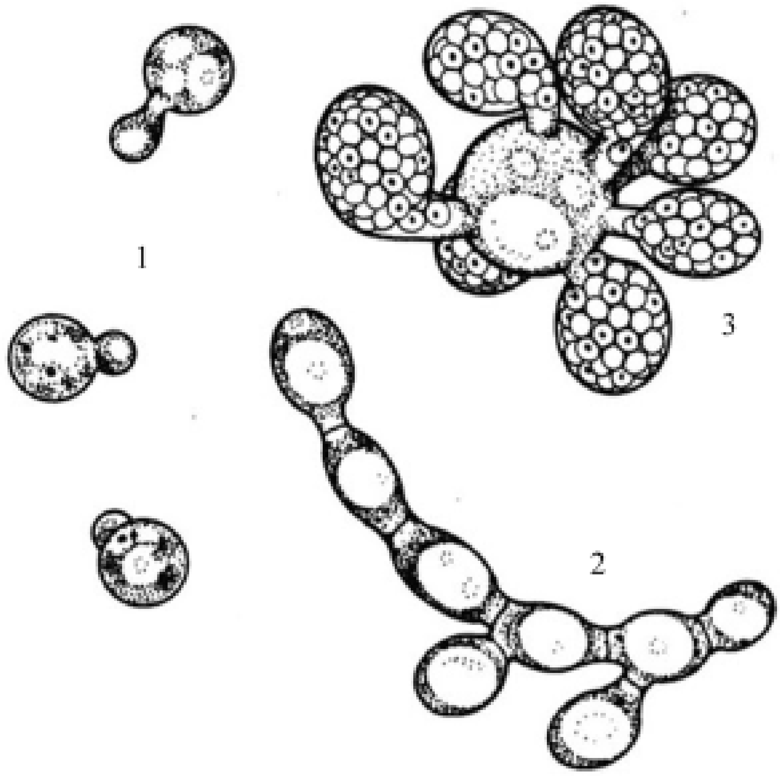


Рис. 67. Babjevia anomala (Lipomyces anomalus): 1 – почкующиеся клетки, 2 – примитивный псевдомицелий, 3 – аски с аскоспорами.

Dipodascopsis

Диморфные грибы, образующие хорошо развитый мицелий, не распадающийся на артроконидии. Почкующиеся клетки немногочисленны

и образуются из аскоспор, часто непосредственно в асках. Освобождающиеся из аска споры становятся толстостенными и прорастают гифами. Гифы с многослойной клеточной стенкой, покрыты большим количеством слизи. Аски образуются латерально на гифах после слияния гаметангиев. Аски игловидные или цилиндрические, открываются отверстием на вершине (рис. 68). В аске образуется 32-128 аскоспор, эллипсоидальных или бобовидных, с гладкой поверхностью и слизистым чехлом. Не бродят.

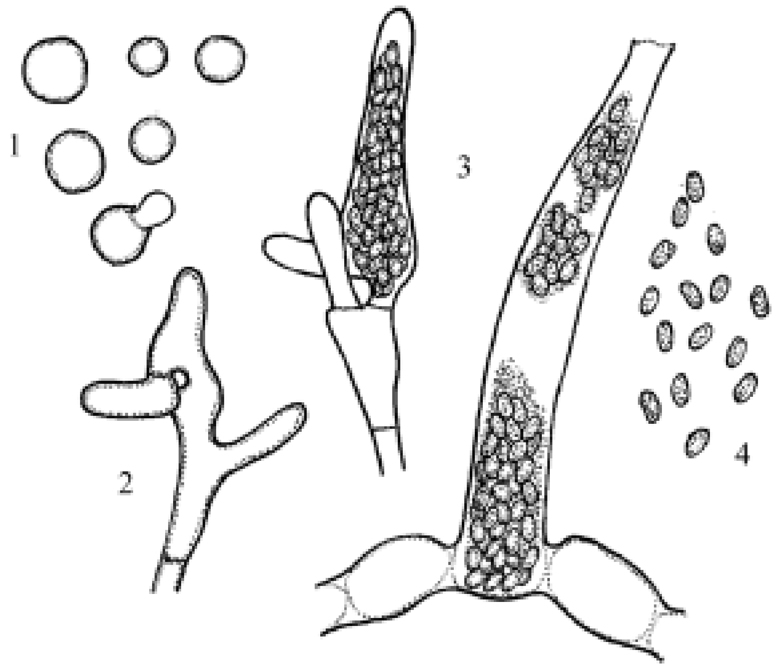


Рис. 68. Dipodascopsis: 1 – одноклеточная стадия, 2 – слияние гаметангиев, 3 – аски со спорами, 4 – освободившиеся аскоспоры.

Lipomyces

Клетки крупные (до 8-10 мкм), круглые, в старых культурах почти целиком заполнены большой каплей жира. Обычно имеют хорошо выраженные капсулы. Размножение многосторонним почкованием, часто материнская клетка образует сразу несколько почек. Могут формировать примитивный псевдомицелий, в котором имеются перетяжки и клетки разделены септами. На плотный средах слизистый рост. Аски мешковидные, образуются разными способами: в результате

копуляции двух почек между собой или со свободной клеткой, формирующей вырост (рис. 69). У одного вида (*L. tetrasporus*) в сумке всегда не более 4 спор; они овальные, имеют продольную штриховку, хорошо заметную в световом микроскопе. У других видов количество спор в аске строго не фиксировано, их может быть более 30, они круглые или слегка овальные, гладкие или со складчатой поверхностью. Все виды не бродят, хорошо растут на средах с высоким отношением углерода к азоту. Выделяются только из почв и практически не обнаруживаются в других местообитаниях. Относятся к автохтонным обитателям почвы, проводя в ней весь жизненный цикл. Разные виды имеют ограниченные ареалы и распространены лишь в определенных типах почв.

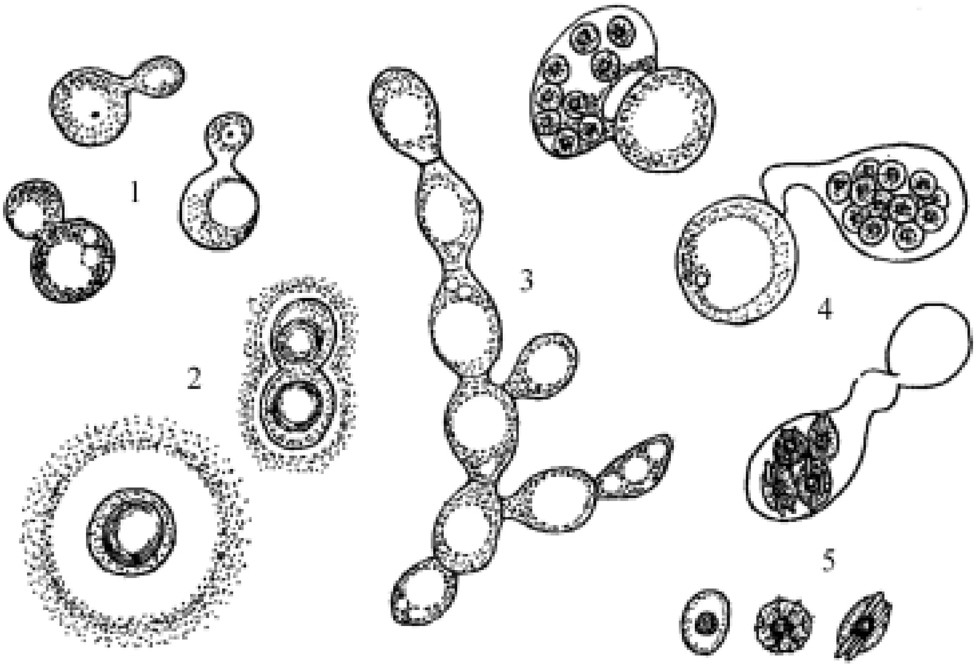


Рис. 69. Lipomyces: 1 – почкующиеся клетки, 2 – клетки с капсулами, 3 – примитивный псевдомицелий, 4 – мешковидные аски, 5 – аскоспоры разных видов.

Zygozyma

Клетки круглые или овальные, образуют капсулы, колонии слизистые. Вегетативное размножение многосторонним почкованием на узком основа-

нии, однако редко наблюдается образование септ с плазмодесмами. Псевдомицелий или истинный мицелий не образуют. Аски мешковидные (рис. 70), формируются из особых выростов клеток или непосредственно из клеток. Аскоспоры аллантоидные, гладкие, янтарного цвета. Аски быстро разрушаются, освободившиеся споры агглютинируют и образуют гроздья. Сахара не сбраживают.

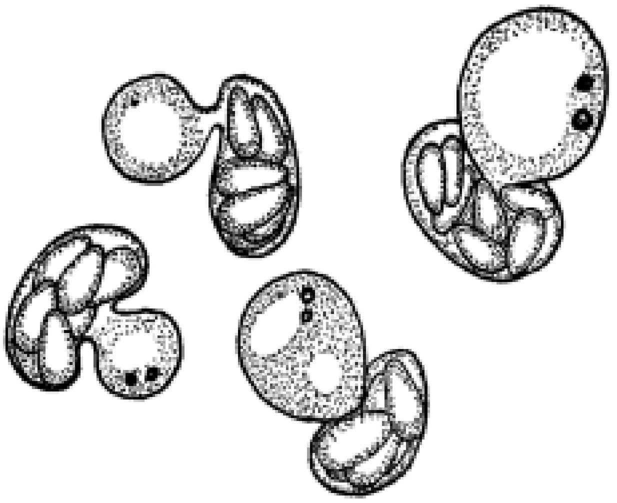


Рис. 70. Zygozyta: мешковидные аски со спорами.

Семейство Metschnikowiaceae

Clavispora

Бесполое размножение - многосторонним почкованием на узком основании. Клетки яйцевидные, эллипсоидальные или удлиненные. Может формироваться псевдомицелий, истинный мицелий отсутствует. Спорообразованию предшествует конъюгация гаплоидных клеток противоположных типов спаривания. Аскоспоры булавовидные, обычно с липидной каплей, одна-две, редко три или четыре в аске (рис. 71). Споры с бородавчатой поверхностью, видимой в сканирующем электронном микроскопе. Споры легко освобождаются из аска. Бродят.

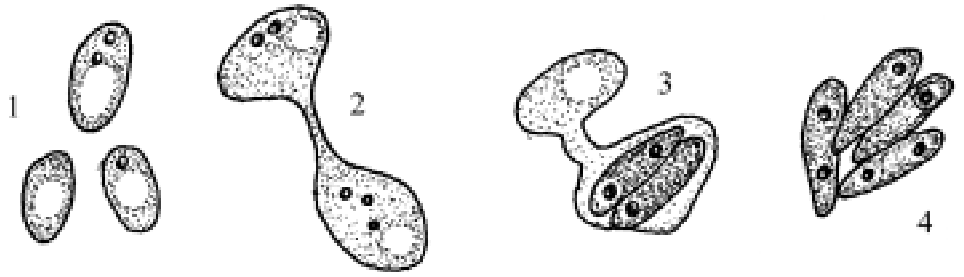


Рис. 71. Clavispora: 1 – клетки, 2 – конъюгация клеток, 3 – аск с аскоспорами, 4 – аскоспоры, освободившиеся из аска.

Metschnikowia

Клетки круглые, овальные, эллипсовидные, цилиндрические, серповидные. В культурах часто присутствуют крупные хламидоспороподобные клетки. Аски булавовидные или клиновидные, образуются из хламидоспор. Аскоспоры игловидные, заостренные с одного или двух концов, 1-2 в аске (рис. 72). Один из видов - *M. pulcherrima* образует вишнево-красный пигмент - пульхерримин, который диффундирует в среду. Часть видов часто обнаруживается в воде, где они могут паразитировать на водных беспозвоночных. Другие виды - типичные обитатели филлосферы, нектара цветов, связаны с насекомыми-опылителями, которые служат векторами распространения этих дрожжей.

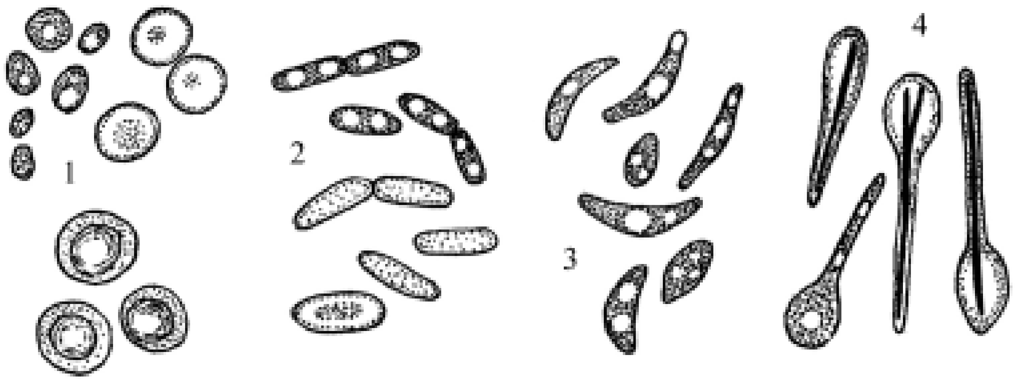


Рис. 72. Metschnikowia: 1 - 3 – клетки разных видов, 1- M. pulcherrima, 2 – M. reukaufii, 3 – M. lunata, 4 – аски с игловидными аскоспорами.

Семейство Saccharomycetaceae

Это центральное семейство порядка Saccaromycetales, включающее наиболее типичных представителей дрожжей. Большинство видов этого семейства способны к активному спиртовому брожению. В культуре обычно преобладают одиночные клетки, размножающиеся истинным многосторонним почкованием, многие вообще не способны к образованию мицелия. В природе эти дрожжи обычно встречаются в субстратах с высоким содержанием простых сахаров.

Arxiozyma

Клетки круглые овальные или слегка удлиненные, вегетативное размножение многосторонним почкованием на узком основании. Мицелий

не образуют. Клетки без предварительной конъюгации трансформируются в аски с 1, редко 2 сферическими аскоспорами. Поверхность аскоспор бородавчатая, с выростами наподобие протуберанцев, образующихся из внешнего слоя клеточной стенки. Активно бродят. Известен один вид *A. telluris*, который ранее относили к роду *Saccharomyces*. Выделен в самостоятельный род на основании электронномикроскопического изучения поверхности аскоспор. Обнаруживается в почве, помете и кишечном тракте травоядных животных.

Citeromyces

Клетки сферические до эллипсоидальных. Вегетативное размножение истинным многосторонним почкованием. Мицелий или псевдомицелий не образуют. Гетероталличны. Из природных субстратов могут быть выделены как диплоидные, так и гаплоидные штаммы. У первых вегетативные клетки непосредственно превращаются в толстостенный аск с одной, редко с двумя круглыми бородавчатыми аскоспорами (рис. 73). У гаплоидных штаммов спорообразованию предшествует конъюгация клеток противоположных типов спаривания. Перед конъюгацией происходит агглютинация клеток. Гаплоидные культуры могут превращаться в однополые диплоидные. Сахара сбраживают. Встречаются в продуктах с высоким содержанием сахара: фруктовых сиропах, слизетечениях деревьев, сгущенном молоке и т.п. Известен только один вид - *C. matritensis*.

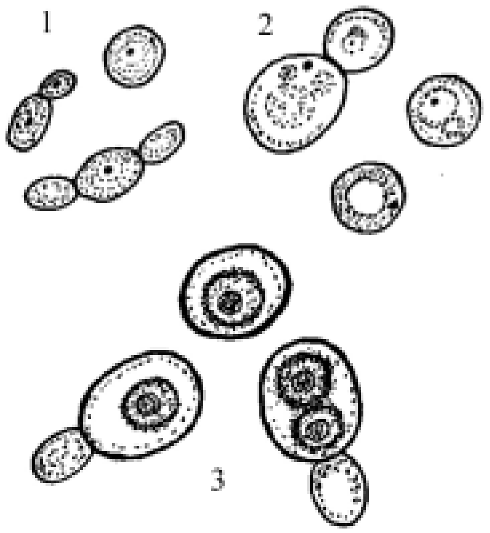


Рис. 73. Citeromyces: 1, 2 – гаплоидные и диплоидные почкующиеся клетки, 3 – аски с аскоспорами.

Cyniclomyces

Клетки крупные (до 20 мкм), овальные, цилиндрические. Почкование полярное, на широком основании. Образуют псевдомицелий. Вегетативные клетки без предварительной конъюгации превращаются в аски с 1-4 (иногда до 6) с крупными удлиненно-овальными аскоспо-

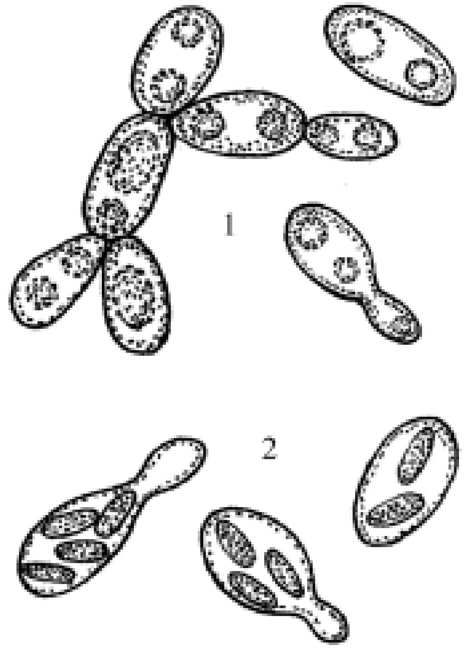


Рис. 74. Cyniclomyces: 1 – вегетативные клетки, 2 – аски с аскоспорами.

рами (рис. 74). Последние непосредственно прорастают в вегетативные клетки, сбрасывая наружную оболочку (экзоспориум) или предварительно конъюгируют между собой. Слабо сбраживают сахара. Растут только при температуре в интервале 30-40°С. Для роста необходима среда с повышенным содержанием сахаров, присутствие аминокислот и витаминов группы В, а также высокое содержание CO_2 в газовой среде. При комнатной температуре культуры быстро отмирают. Обитают в кишечном тракте кроликов. Известен один вид - *C. guttulatus*.

Debaryomyces

Клетки круглые или овальные. Вегетативное размножение истинным многосторонним почкованием. Мицелий обычно отсутствует, реже образуется примитивный псевдомицелий. Аски образуются в результате конъюгации между клеткой и ее почкой (педогамия). Почка превращается в аск с 1-4 круглыми или слегка овальными аскоспорами с гладкой или бородавчатой поверхностью (рис. 75). У некоторых видов споры

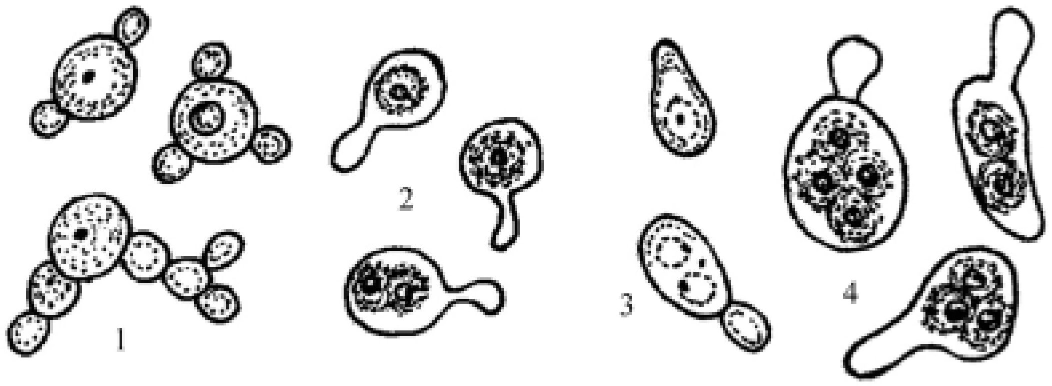


Рис. 75. Debaryomyces: 1,2 – D. hansenii, 3, 4 – D. vanrijiae; 1, 3 – почкующиеся клетки, 2 ,4 – аски с аскоспорами после педогамной копуляции.

имеют экваториальный ободок или спиральные бороздки. Виды, имеющие споры с экваториальным ободком, ранее выделяли в самостоятельный род *Schwanniomyces* (рис. 76). Аскоспоры обычно долго не освобождаются из аска. Сахара не сбраживают, или сбраживают слабо.

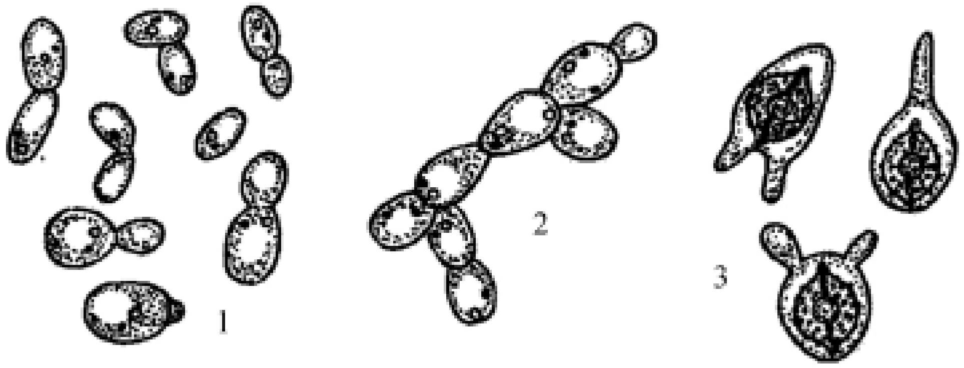


Рис. 76. Schwanniomyces: 1 – почкующиеся клетки, 2 – аски со спорами.

Dekkera

Почкующиеся клетки круглые, овальные, удлиненные, часто заостренные с одного полюса. Почкование многостороннее, на узком основании. Образуют псевдомицелий, иногда ветвящийся несептированный мицелий. Аски формируются непосредственно из вегетативных клеток, без конъюгации, недолговечны, в аске образуется 1-4 аскоспоры (рис. 77). Аскоспо-

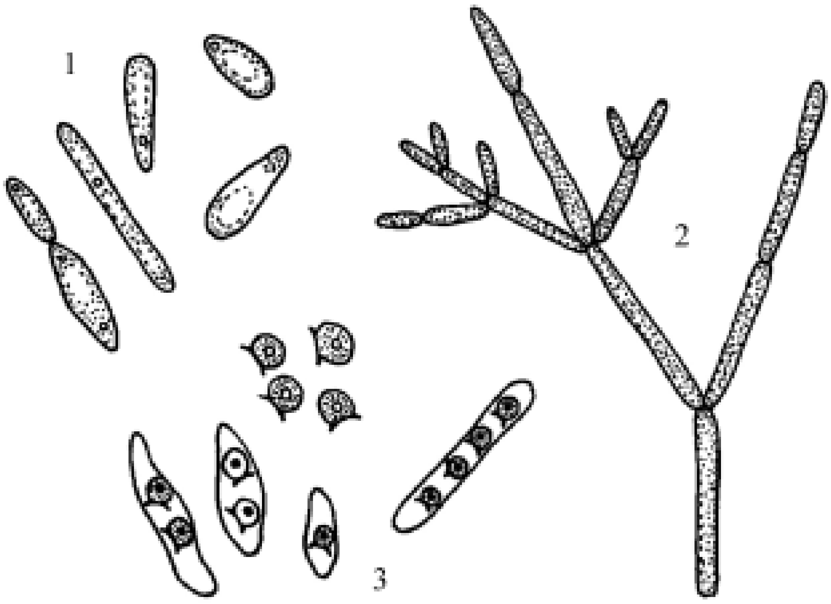


Рис. 77. Dekkera: 1 – клетки, 2 – псевдомицелий, 3 – аски со спорами.

ры шляповидные, после освобождения из аска слипаются друг с другом. При росте на глюкозе образуют уксусную кислоту, придающую культурам характерный запах. На средах растут медленно и быстро гибнут из-за накопления в среде значительных количеств уксусной кислоты. Сахара сбраживают, причем брожение не подавляется аэрацией. Наиболее часто обнаруживаются в продуктах бродильных производств. Аспорогенные формы классифицируются в роде *Brettanomyces*.

Issatchenkia

Клетки круглые, овальные или удлиненные. Многостороннее почкование на узком основании. Мицелий или псевдомицелий не образуется. Аски формируются из диплоидных клеток (азиготические) или непосредственно после конъюгации гаплоидных клеток противоположных типов спаривания. В аске образуется от 1 до 4 круглых спор, с утолщенной клеточной стенкой и бородавчатой поверхностью, заметной в световом микроскопе (рис. 78). Глюкозу сбраживают. При росте в жидких средах образуют хорошо выраженную пленку.

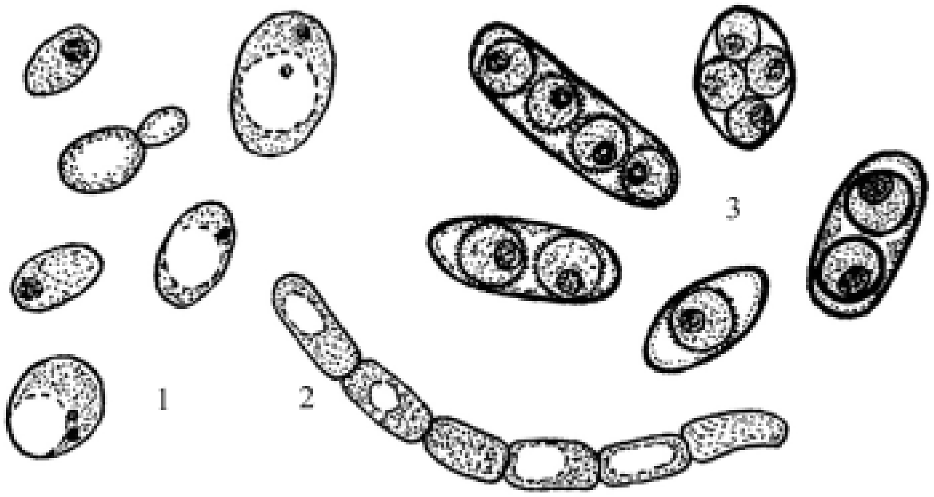


Рис. 78. Issatchenkia: 1 – почкующиеся клетки, 2 – псевдомицелий, 3 – аски со спорами.

Kluyveromyces

Клетки яйцевидные, эллипсоидальные, цилиндрические, удлиненные. Вегетативное размножение многосторонним почкованием на узком основании. Может формироваться псевдомицелий, но истинный мицелий

не образуют. Аски формируются или непосредственно из вегетативных клеток, или после их конъюгации. Аскоспоры гладкие, бобовидные, почковидные, палочковидные, эллипсоидальные или сферические, обычно 1-4 в аске, но у некоторых видов до 70 и более (рис. 79). Аски быстро разрываются и освободившиеся аскоспоры обычно склеиваются и образуют гроздья. Сахара сбраживают.

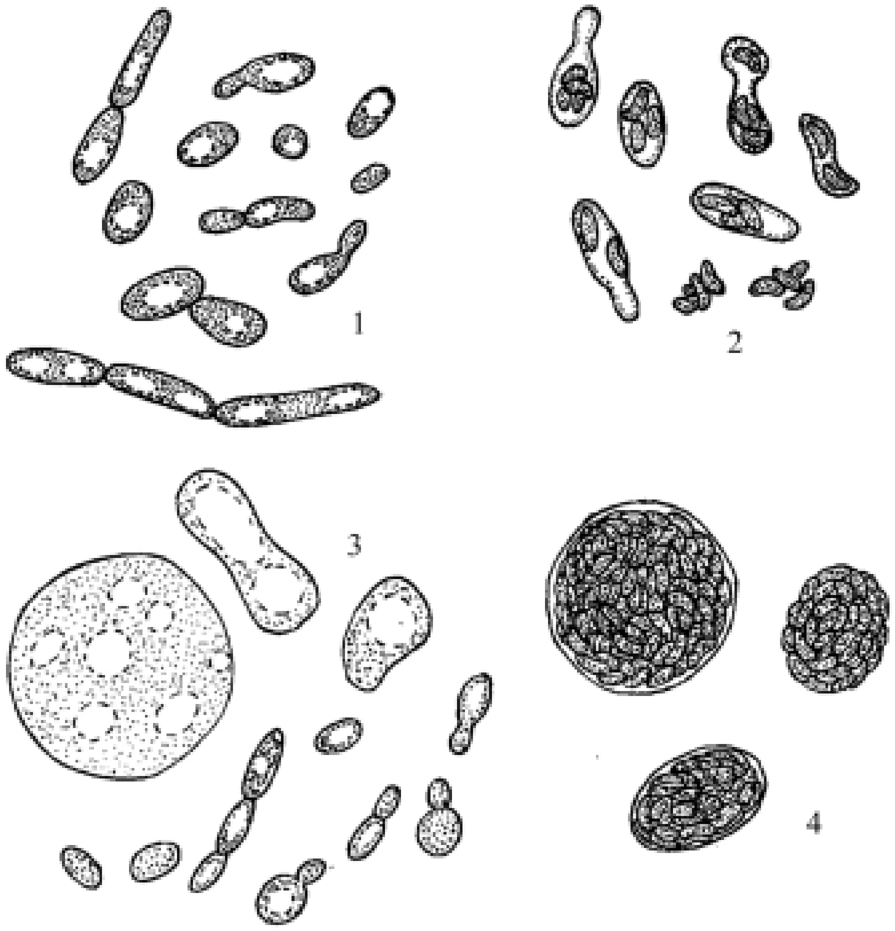


Рис. 79. Kluyveromyces: 1, 2 – K. marxianus, 1 – клетки, 2 – четырехспоровые аски; 3, 4 – K. polysporus, 3 – клетки, 4 – полиспоровые аски.

Lodderomyces

Клетки круглые, яйцевидные или удлиненные. Вегетативное размножение многосторонним почкованием на узком основании. Истинный мицелий отсутствует, но может формироваться псевдомицелий. Гомоталличны. Аски неконъюгативные, образуются непосредственно из вегетативных клеток. В аске одна, редко две эллипсоидальных или цилиндри-

ческих, иногда слегка изогнутых, аскоспоры, которые долго не освобождаются из аска (рис. 80). Сахара сбраживают слабо.

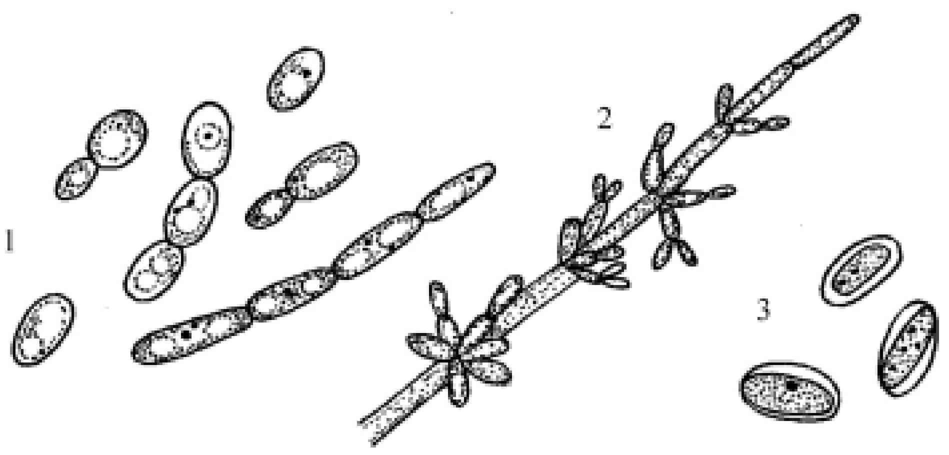


Рис. 80. Lodderomyces elongisporus: 1 – вегетативные клетки, 2 – псевдомицелий, 3 – аски с одной аскоспорой.

Pachysolen

Клетки овальные, до круглых, иногда апикулятные. Почкование многостороннее на узком основании. Псевдомицелий рудиментарный или отсутствует, истинный мицелий не образуют. Аски имеют очень характерную форму, по которой легко отличить дрожжи этого рода. При спорообразовании клетка образует длинный трубчатый вырост, на конце которого в круглом вместилище размещаются 4 споры (рис. 81). В этом месте стенка остается тонкой и легко разрывается после созревания спор. Остальная часть клетки с возрастом становится толстостенной. Споры полусферические до шляповидных. Дрожжи гомоталличны. Образованию асков предшествует конъюгация, и на зрелых асках обычно имеются прикрепленные сбоку маленькие

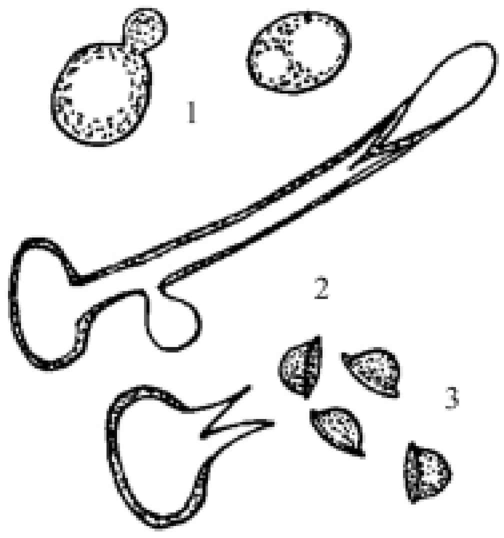


Рис. 81. Pachysolen tannophilus: 1 – почкующиеся клетки, 2 – аск с трубчатым выростом, 3 – аскоспоры.

клетки-конъюганты. Глюкозу сбраживают. Обладают редкой способностью активно сбраживать ксилозу. Известен всего один вид *P. tannophilus*. Используется для получения спирта из гидролизатов древесины.

Pichia

Клетки от круглых до овальных, иногда сильно вытянутые. Размножение многосторонним почкованием, многие виды образуют примитивный или сложный псевдомицелий с бластоспорами, реже встречается истинный мицелий. Виды гомо- или гетероталличны. Аски образуются непосредственно из одиночных клеток, или же их образованию предшествует конъюгация между различными клетками или между клеткой и почкой (педогамия). Аски могут формироваться также из клеток мицелия или псевдомицелия, но при этом они не бывают раздутыми или игловидными и не располагаются на аскофорах. Аскоспоры шляповидные, полусферические или сферические с ободком (рис. 82). Могут сбраживать сахара. Многовидовой род, включающий около 100 видов, которые филогенетически гетерогенны.Часть видов ранее классифицировалась в роде *Hansenula*.

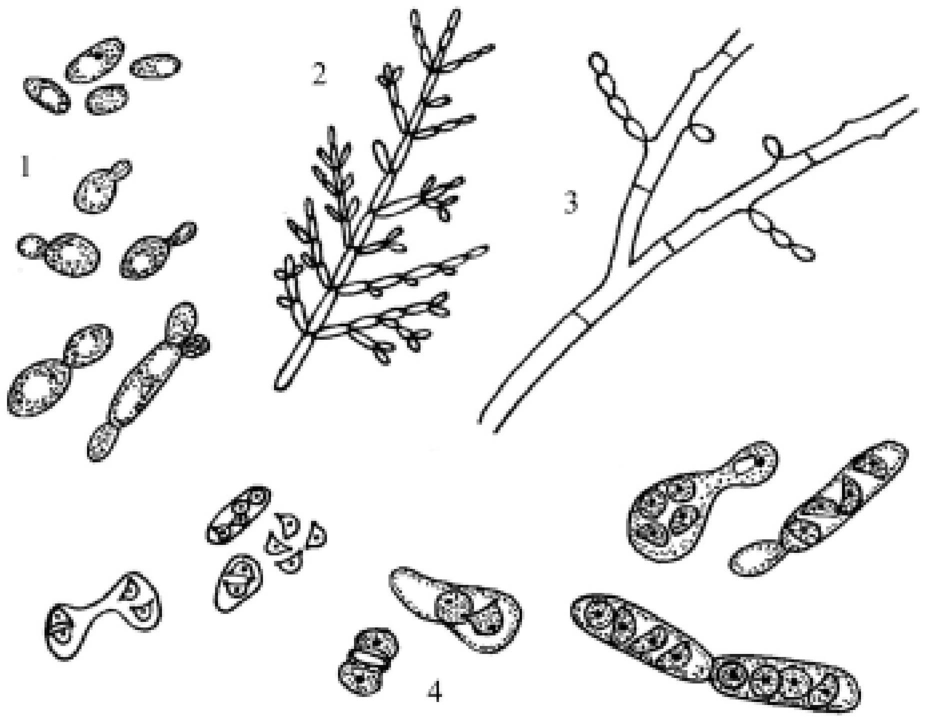


Рис. 82. Pichia: 1 – почкующиеся клетки, 2 –псевдомицелий, 3 –истинный мицелий с бластоконидиями, 4 – аски со спорами у разных видов.

Saccharomyces

Клетки овальные или круглые, иногда удлиненные. Почкование истинное, многостороннее. Может формироваться примитивный псевдомицелий, но истинного мицелия не образуют. Диплоидизация происходит в результате слияния двух гаплоидных клеток (хологамия). Вегетативно размножаются в основном диплоидные клетки. Аски образуются преимущественно из вегетативных диплоидных клеток. Аски круглые или овальные, при созревании спор не вскрываются. Аскоспоры круглые или слабоовальные, бесцветные, гладкие, 1-4 в аске (рис. 83). Все виды активно сбраживают сахара. Дрожжи этого рода с давних времен распространены в кустарном виноделии и широко используются в разных отраслях бродильной промышленности, в связи с чем они более всех других дрожжей изучены в разных аспектах. Их систематика, однако, многократно пересматривалась. Центральный вид - *S. cerevisiae* известен в десятках синонимов, которые в настоящее время рассматриваются как производственные расы, но не самостоятельные виды.

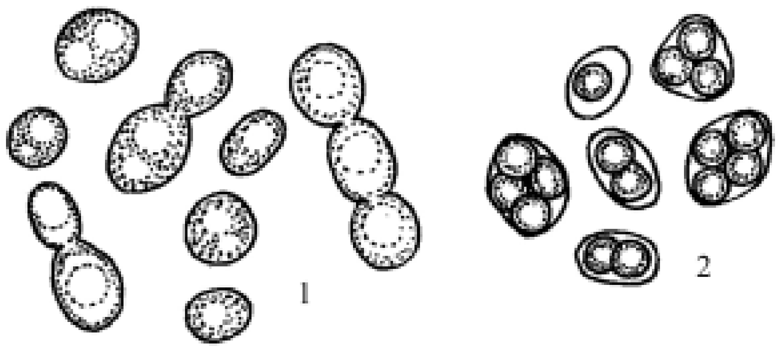


Рис. 83. Saccharomyces cerevisiae: 1 – почкующиеся клетки, 2 – аски со спорами.

Saturnispora

Клетки круглые, овальные или иногда слегка вытянутые. Вегетативное размножение истинным многосторонним почкованием. Истинный мицелий отсутствует, но может формироваться псевдомицелий. Аски образуются непосредственно из клеток или в результате конъюгации между материнской клеткой и почкой (педогамия) или между независи-

мыми клетками. Аски содержат 1-4, редко до 8 аскоспор (рис. 84). Споры сферические, с экваториальным ободком. Сбраживают глюкозу.

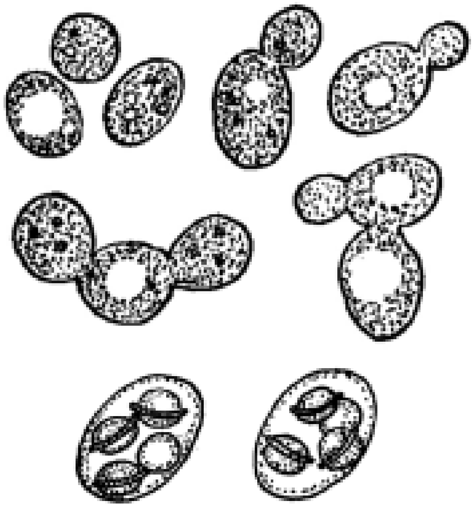


Рис. 84. Saturnispora: 1 – почкующиеся клетки, 2 – аски со спорами.

Torulaspora

Клетки круглые или коротковальные. Почкование многостороннее, на узком основании. В молодых культурах обычно множественное почкование, при котором на одной клетке одновременно образуется до десятка и более почек. Может присутствовать псевдомицелий, но истинные гифы отсутствуют. Аски могут формироваться непосредственно из клеток или после конъюгации между материнской клеткой и почкой или между отдельными клетками. Клетки обычно несут выросты, сходные с конъюгационными трубками. Аски круглые или овальные, содержат 1-4 сферических аскоспоры (рис. 85). Поверхность аскоспор гладкая или бородавчатая. Сбраживают сахара.

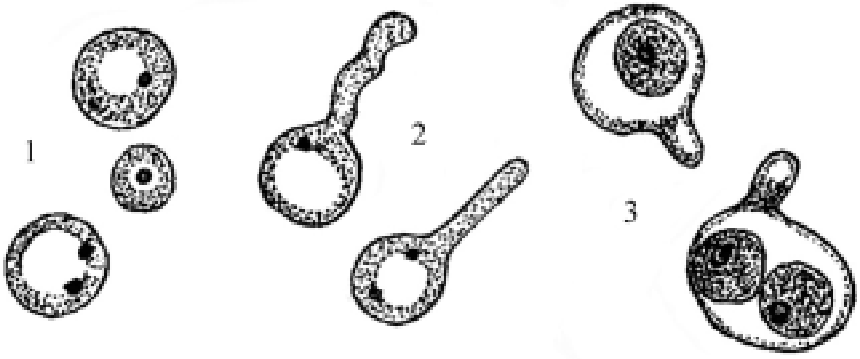


Рис. 85. Torulaspora: 1 – вегетативные клетки, 2 – клетки с конъюгационными выростами, 3 – акси со спорами.

Williopsis

Клетки круглые или коротковальные. Почкование многостороннее. Могут образовывать псевдомицелий, но истинный мицелий отсутствует.

Аски образуются без конъюгации или после конъюгации отдельных клеток, или в результате педогамии. Споры гладкие, но с хорошо заметным выступающим экваториальным ободком, в аске 1-2 или 1-4 споры (рис. 86). При созревании они не освобождаются из сумок. В природе обычно встречаются в плодородных высокогумусированных почвах

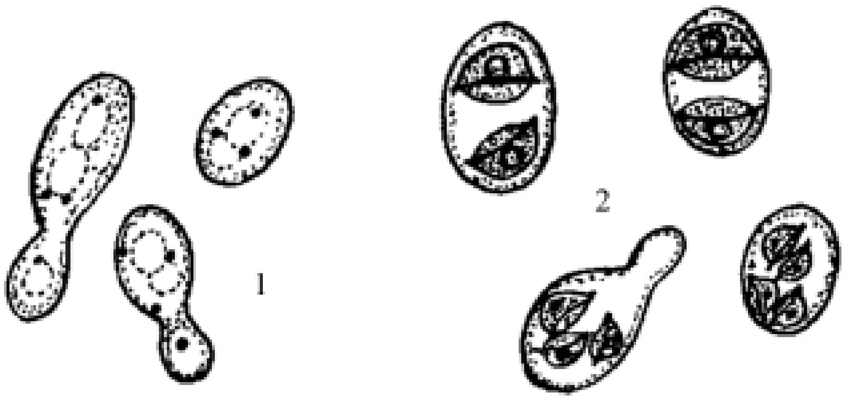


Рис. 86. Williopsis: 1 – почкующиеся клетки, 2 – аски со спорами.

Zygosaccharomyces

Клетки круглые или овальные. Вегетативное размножение многосторонним почкованием. Асками становятся зиготы, образующиеся непосредственно после конъюгации отдельных клеток. Аскоспоры круглые или овальные, гладкие, 1-4 в аске (рис. 87). Активно сбраживают сахара. Для большинства штаммов характерна способность развиваться в субстра-

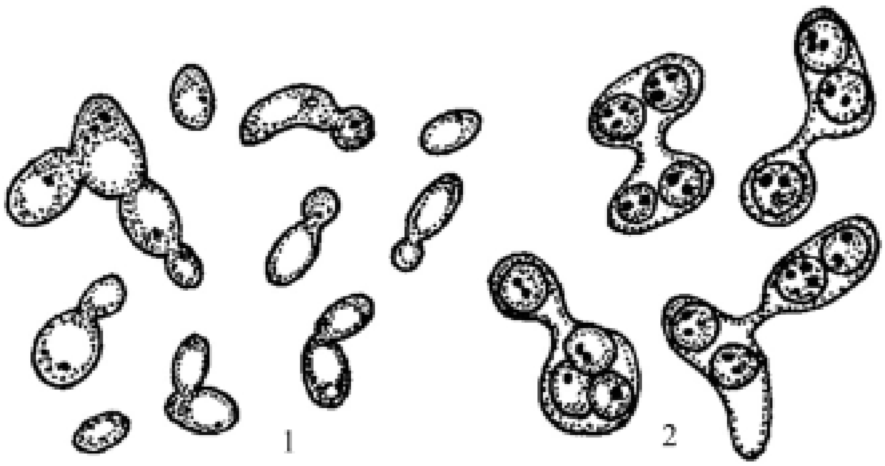


Рис. 87. Zygosaccharomyces: 1 – почкующиеся клетки, 2 – азиготические аски с аскоспорами.

тах с высокими концентрациями сахара (до 80%). Встречаются в меде, вареньях, сахарных сиропах, концентрированном соке, сухофруктах и. т. п., вызывая их порчу. В природе встречаются в нектаре цветов, на поверхности винограда и других сочных плодов.

Семейство Saccharomycodaceae

Эту группу дрожжей отличает характерная морфологическая особенность - вегетативное размножение биполярным почкованием на широком основании (почкующееся деление), в результате которого клетки приобретают апикулятную (лимоновидную) форму. Роды различаются формой аскоспор, типом полового процесса.

Hanseniaspora

Клетки мелкие, лимоновидные, овальные, вегетативное размножение биполярным почкованием на широком основании. Вегетативные клетки непосредственно превращаются в аски с 1-4 шляповидными или круглыми аскоспорами (рис. 88). Сахара сбраживают. Имеют абсолютную потребность в инозите и пантотеновой кислоте. В природе часто обнаруживаются на сочных сахаристых плодах, на винограде. Относятся к «сорнякам» бродильных производств. Аспорогенные формы классифицируются в роде *Kloeckera*.

Рис. 88. Hanseniaspora: 1 – апикулятные клетки с биполярным почкованием, 2 – аски со спорами.

Nadsonia

Клетки лимоновидные, овальные или удлиненные. Вегетативное размножение биполярным почкованием на широком основании. Аскоспорообразованию предшествует копуляция между материнской клеткой и почкой (педогамия), реже копуляция наблюдается между отдельными клетками. Аском становится новая почка, образующаяся на противоположном конце исходной материнской клетки. При этом возникают характерные «триады» клеток. Иногда в аск превращается материнская клетка или копулирующая почка. В аске обычно 1, редко 2-3 круглые коричневатые шиповатые аскоспоры (рис. 89). Штрих старых культур приобретает шоколадно-коричневый цвет. Сахара сбраживают слабо или не сбраживают. В природе встречаются редко, главным образом в весенних сокотечениях лиственных деревьев в зоне умеренного климата.

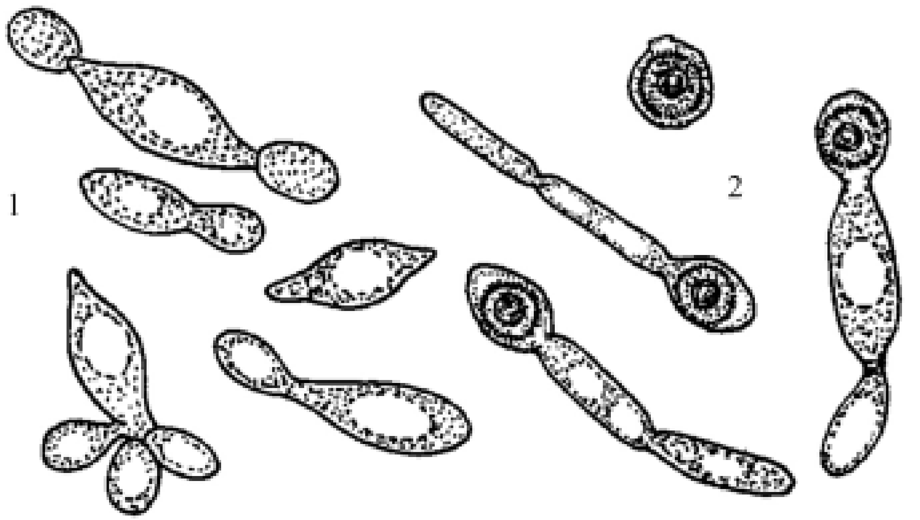


Рис. 89. Nadsonia: 1 – апикулятные клетки, возникающие в результате биполярного почкующегося деления, 2 – аски со спорами, образовавшиеся после педогамной копуляции.

Saccharomycodes

Клетки крупные, до 20 мкм и более в длину, лимоновидные или удлиненно-овальные. Вегетативное размножение биполярным почкованием на широком основании. Аски возникают без предварительной конъюгации из диплоидных вегетативных клеток. Аски содержат 2 или 4 круглые аскоспоры с гладкой оболочкой, которые располагаются попарно и в месте соединения иногда имеют узкий ободок. Споры при созревании

не освобождаются, а копулируют попарно и, прорастая, разрывают стенку аска (рис. 90). Сахара сбраживают. Известен всего один вид - *S. ludwigii*. В природе встречается в сокотечениях деревьев, на поверхности плодов, в самозабродивших плодовых и ягодных соках. В виноделии относится к «сорнякам» брожения.

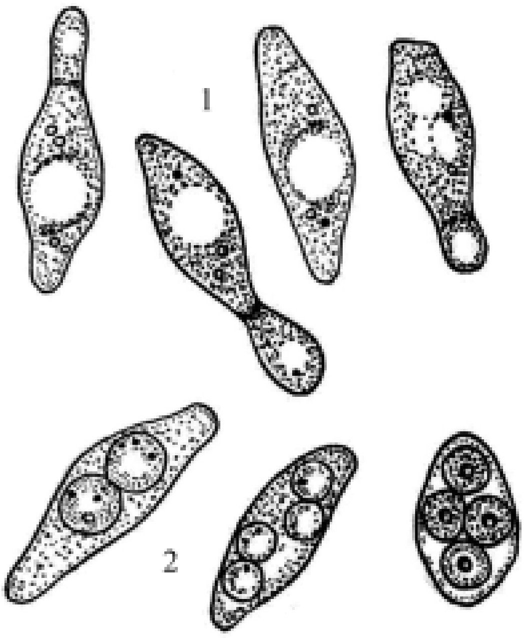


Рис. 90. Saccharomycodes ludwigii: 1 – апикулятные клетки с биполярным почкующимся делением, 2 – аски со спорами, попарно копулирующими непосредственно в аске.

Wickerhamia

Клетки овальные до вытянутых, апикулятные. Вегетативное размножение биполярным почкованием на широком основании. Аски формируются без предварительной конъюгации. Аскоспоры круглые, с асимметричным смещенным ободком, который придает им сходство со спортивной кепкой. В аске обычно одна или две аскоспоры, очень редко больше (рис. 91). После созревания аскоспор аски разрушаются, разрываясь по экватору на две половинки. Сахара сбраживают.

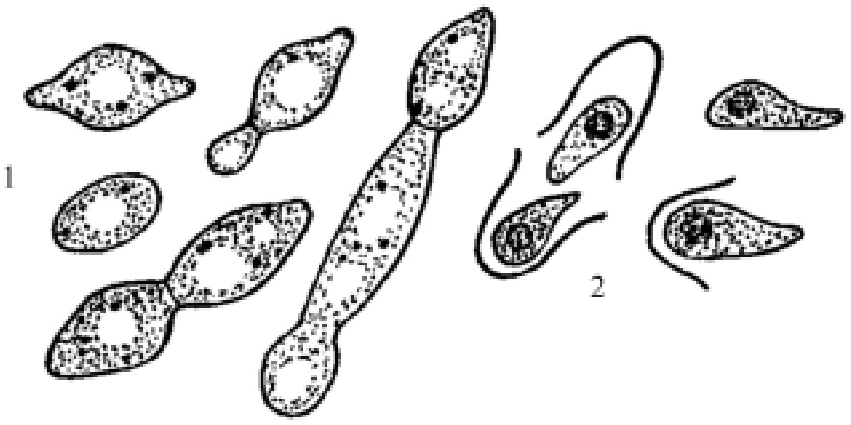


Рис. 91. Wickerhamia: 1 – вегетативные клетки с биполярным почкующимся делением, 2 – разрушающиеся аски и аскоспоры.

Семейство Saccharomycopsidaceae

Дрожжеподобные грибы, в культурах которых присутствует как истинный мицелий, не распадающийся на артроспоры, так и одиночные почкующиеся клетки. Аски образуются на мицелии и содержат шляповидные аскоспоры.

Ambrosiozyma

Дрожжеподобные грибы, формирующие обильный мицелий с бластоспорами, которые образуются на небольших выростах и при отделении оставляют рубцы. Присутствуют также почкующиеся дрожжевые клетки и псевдомицелий. На септах мицелия имеются хорошо заметные в световой микроскоп утолщения вокруг поры (долипоры). Аски в основном образуются на гифах пучками латерально или терминально (рис. 92). Аскоспоры шляповидные и сатурновидные, 1-4 в аске при созревании становятся коричневыми и легко освобождаются из аска. Колонии вначале кремовые, позже приобретают коричневый оттенок. Имеют характерный запах амфоры. В природе встречаются в ассоциациях с жуками-короедами.

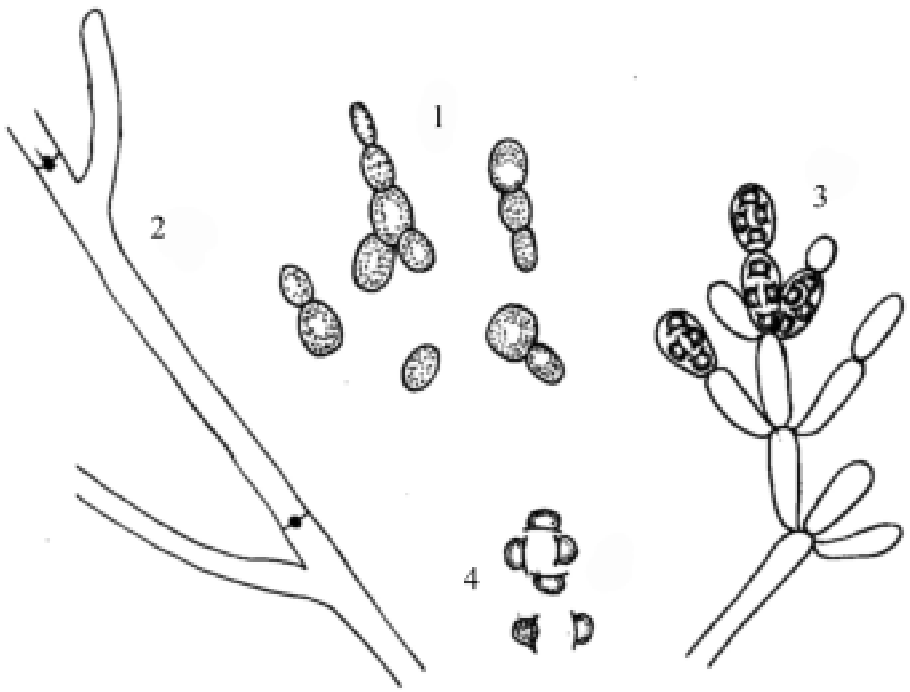


Рис. 92. Ambrosiozyma monospora: 1 – почкующиеся клетки, 2 – септированный мицелий с долипорами, 3 – аски на мицелии, 4 – аскоспоры.

Saccharomycopsis

В культурах обильный истинный мицелий, обычно с бластоспорами. У некоторых видов мицелий может распадаться на артроспоры. Почкующиеся клетки также присутствуют, круглые или овальные, почкование может быть как на узком, так и на широком основании. Аски обычно формируются из клеток мицелия (рис. 93). В асках 1-4, редко 8 спор. Аскоспоры могут быть шляповидными, почковидными с концевыми придатками, сферическими или эллипсоидальными, могут иметь один или несколько экваториальных ободков. Поверхность спор гладкая или бородавчатая. Некоторые виды бродят.

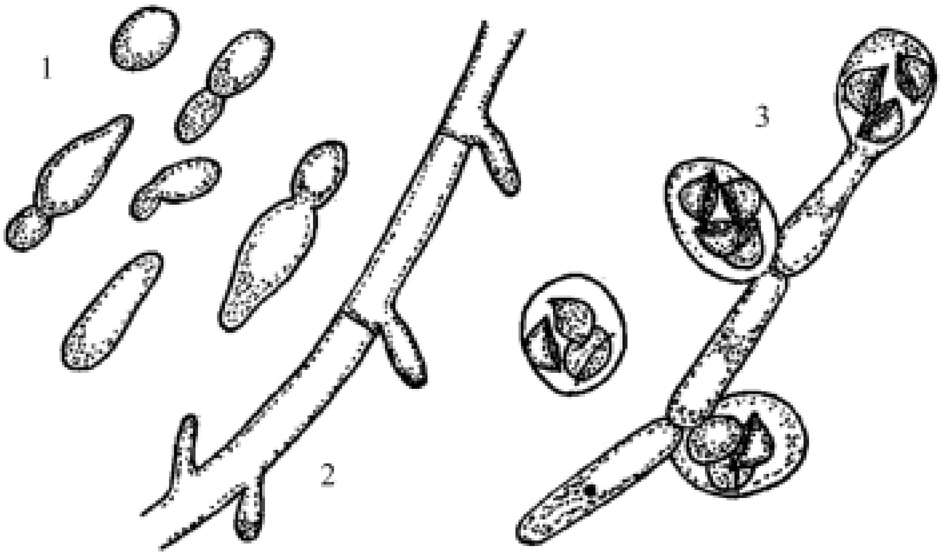


Рис. 93. Saccharomycopsis: 1 – почкующиеся клетки, 2 – септированный мицелий, 3 – аски на мицелии.

Систематика этого рода неоднократно пересматривалась. Его история ведет начало от рода *Endomycopsis*, в котором первоначально классифицировалось большинство аскоспоровых дрожжеподобных грибов, образующих как истинный мицелий, так и почкующиеся клетки, с асками, располагающимися на мицелии. Сейчас в род включены виды, ранее относившиеся как к роду *Endomycopsis*, так и к некоторым другим родам дрожжеподобных грибов, существенно различающимся по морфологическим признакам: *Endomycopsella*, *Arthroascus* (рис. 94), *Guilliermondella*, некоторые виды *Pichia*.

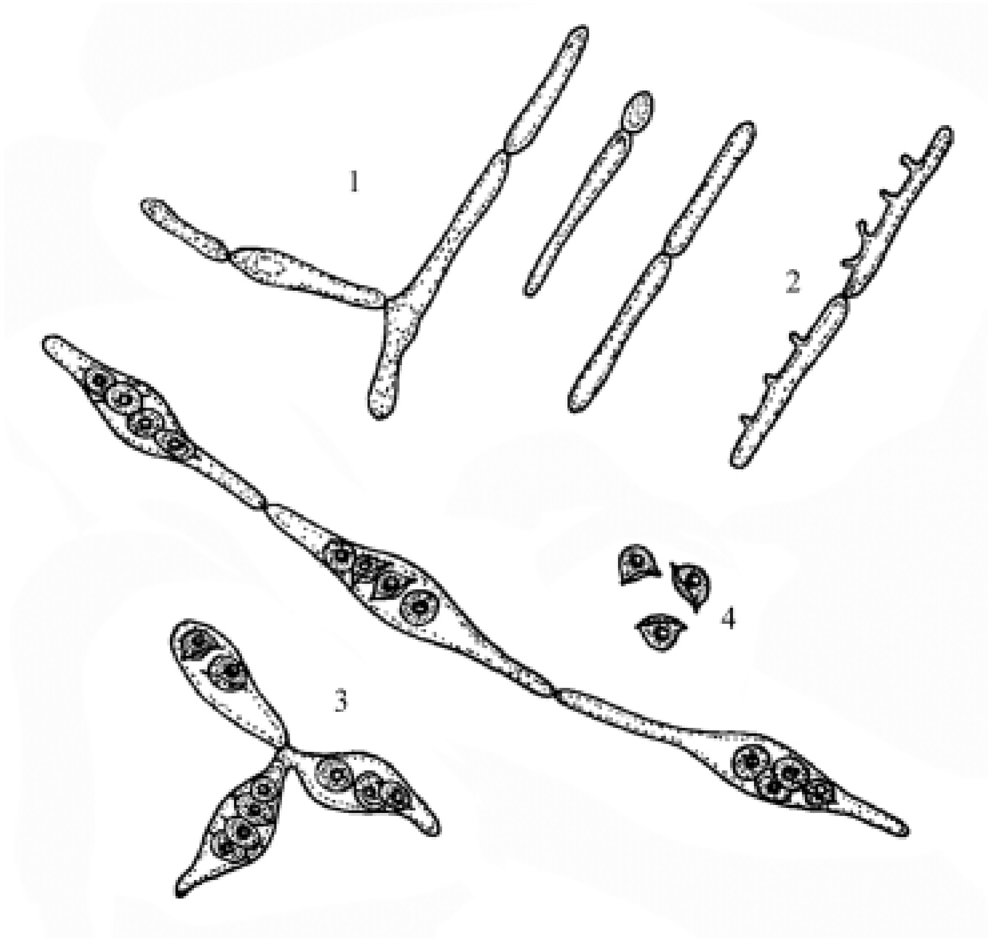


Рис. 94. Saccharomycopsis javanensis (ранее Arthroascus javanensis): 1 – почкующиеся клетки и клетки псевдомицелия, 2 – клетки псевдомицелия с зубчиками от оторвавшихся бластоспор, 3 – аски из клеток псевдомицелия, 4 – шляповидные аскоспоры.

Класс Euascomycetes

Среди настоящих мицелиальных аскомицетовых грибов также встречаются роды, которые в культуре растут в виде дрожжевых колоний в результате вегетативного размножения одиночных клеток, обильной фрагментации мицелия, или массового отпочковывания конидий. К ним относятся так называемые «черные дрожжи» из родов *Aureobasidium*, *Hormonema*, *Botryomyces*, *Phaeotheca*, *Sarcinomyces*, *Exophiala*, *Phialophora*, *Rhinocladiella*, *Phaeococcomyces*,образующие черные колонии при росте на питательных средах. Образование аскоспор у этих грибов в культуре наблюдается редко, в связи с чем их систематика строится в основном на способах образования конидий. Поэтому многие роды этих

грибов формальны, то есть заведомо филогенетически гетерогенны и не соответствуют точно известным телеоморфам.

Анаморфные дрожжи аскомицетового аффинитета

Как уже отмечалось, многие виды дрожжей в культуре не осуществляют полного жизненного цикла, размножаются только вегетативно и не образуют аскоспор. Так как дифференциация дрожжей на роды осуществляется в основном по морфологическим особенностям совершенных стадий (тип полового процесса, форма аскоспор), то идентификация и классификация несовершенных видов вызывает особенные трудности. Сейчас среди аскомицетовых дрожжей различают около двух десятков несовершенных родов, которые дифференцируются по форме клеток, способу вегетативного размножения, физиологическим характеристикам. Ранее такие дрожжи вместе с несовершенными стадиями мицелиальных грибов, относили к формальному классу *Deuteromycetes*. Для многих видов, долгое время известных лишь в анаморфном состоянии, удалось индуцировать в культуре совершенную стадию или установить точное соответствие с телеоморфными видами методом реассоциации ДНК-ДНК. Развитие биохимических и молекулярно-биологических методов, особенно методов секвенирования нуклеотидных последовательностей рРНК, позволило «на равных правах» систематизировать как телеоморфные, так и анаморфные дрожжи. Эти исследования показали, что среди анаморфных родов аскомицетовых дрожжей имеются как монофилетические, включающие близкородственные виды, соответствующие одному телеоморфному роду, так заведомо сборные, в которых разные виды являются анаморфами разных телеоморфных родов. Примерами первых могут служить роды *Brettanomyces* (анаморфные стадии дрожжей рода *Dekkera*), *Kloeckera* (анаморфы *Hanseniaspora*). Наиболее формальным и сборным несовершенным родом является род *Candida*, история которого была рассмотрена выше. Виды этого рода включают анаморфы по крайней мере 15 телеоморфных родов аскомицетовых дрожжей. Наконец, имеет место и обратная ситуация, когда несколько различных анаморфных родов соответствуют одной совершенной стадии. Например, данные по секвенированию рРНК показали, что роды *Blastobotrys*, *Arxula* и *Sympodiomyces* близкородствен-

ны и, возможно, представляют собой анаморфы одного рода *Stephanoascus*. Основная современная тенденция систематики дрожжей - создание единой филогенетической системы, включающей как телеоморфные, так и анаморфные виды. Основную роль в этом играют молекулярно-биологические методы.

Aciculoconidium

Почкующиеся клетки овальные или удлиненные. Почкование истинное, многостороннее. Образуют обильный разветвленный септированный мицелий, на котором латерально расположены овальные бластоспоры. Последние отделяются и почкуются или формируют цепочки, собранные мутовками на гифах (рис. 95). Овальные конидиогенные клетки образуют от 1 до 4 игловидных конидий. Сахара не сбраживают. В роде единственный вид *A. aculeatum*. Известно несколько штаммов, выделенных из кишечника дрозофил.

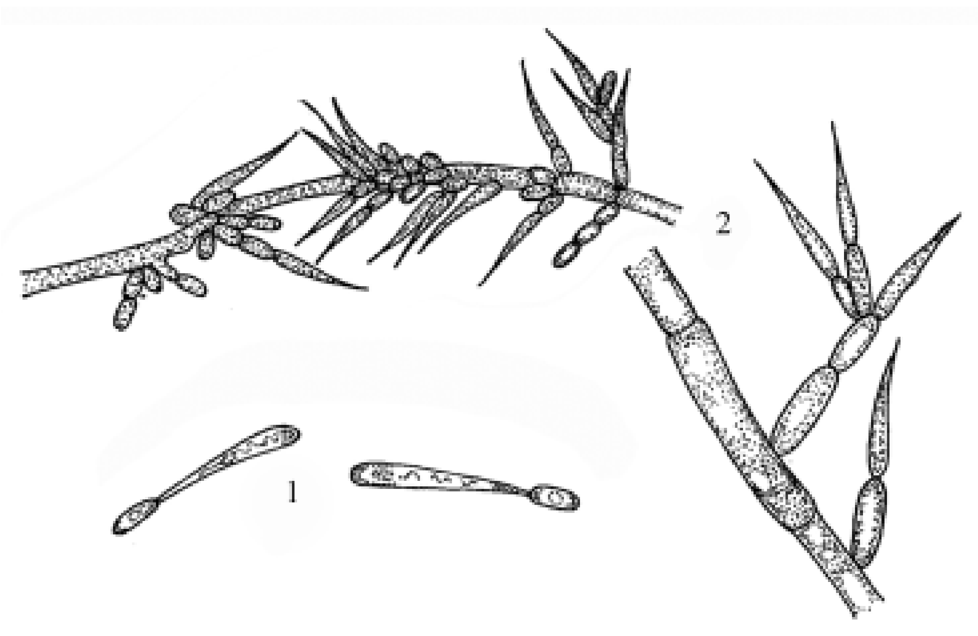


Рис. 95. Aciculoconidium aculeatum: 1 – почкующиеся клетки, 2 – мицелий с игловидными бластоспорами.

Arxula

Клетки овальные или удлиненные. Вегетативное размножение многосторонним истинным почкованием. Формируется обильный псевдомицелий и септированный мицелий. Гифы узкие, слабоветвящиеся, рас-

падающиеся на короткие артроспоры. На гифах могут также формироваться бластоспоры, располагающиеся на коротких зубчиках (рис. 96). Могут сбраживать глюкозу. Способны к росту при низкой активности воды (ксеротолерантные). Виды этого рода первоначально классифицировались в роде *Trichosporon*.

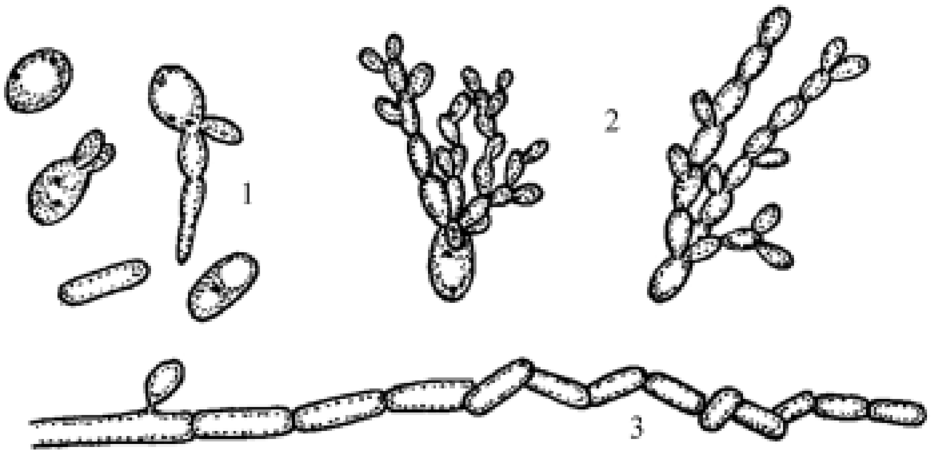


Рис. 96. Arxula: 1 – почкующиеся клетки, 2 – псевдомицелий, 3 – мицелий, распадающийся на артроспоры.

Blastobotrys

Дрожжеподобные грибы, формирующие обильный истинный мицелий, почкующиеся клетки могут присутствовать или отсутствовать. Круглые или коротковальные конидии образуются гроздьями на слегка вздутых концах осевых или боковых гиф. Конидии на стебельках, коротких зубчиках или сидячие. На первичных конидиях могут формироваться вторичные конидии, образуя короткие акропетальные цепочки. Первичные конидии часто имеют остевидные или хлыстовидные придатки. Обычно сбраживают сахара. Телеоморфы классифицируются в роде *Stephanoascus* (см. рис. 61).

Botryozyma

Клетки цилиндрические. Вегетативное размножение многосторонним почкованием на узком основании. Образуют псевдомицелий, истинный мицелий отсутствует. Концевые клетки псевдомицелия дихотомически ветвятся и трансформируются в простые или сложные апрессории (рис. 97). Сахара не сбраживают.

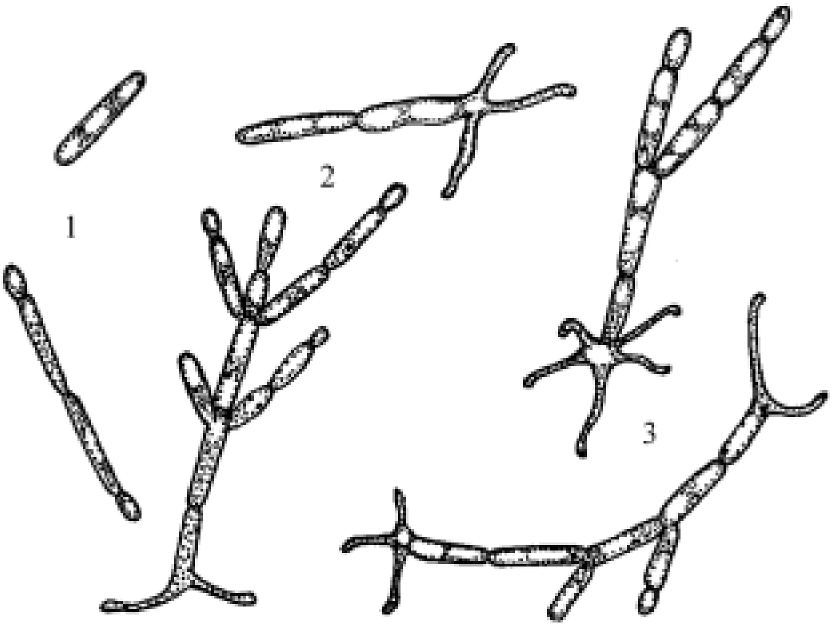


Рис. 97. Botryozyma:1 – дрожжевые клетки, 2 – псевдомицелий, 3 – псевдомицелий с апрессориями.

Brettanomyces

Клетки круглые, овальные, часто яйцевидные, цилиндрические или сильно удлиненные. Почкование истинное, многостороннее, редко биполярное на базипетальных удлинениях клеток. Псевдомицелий простой или хорошо развитый, ветвящийся. Могут формировать несептированный ветвящийся мицелий. На средах растут медленно и быстро гибнут из-за накопления в среде значительных количеств уксусной кислоты. Сахара сбраживают, причем брожение не подавляется аэрацией. Телеоморфы классифицируются в роде *Dekkera* (см. рис. 77).

Candida

Клетки круглые, овальные или удлиненные, иногда яйцевидные, треугольные или серповидные. Вегетативное размножение истинным почкованием. Могут формировать псевдомицелий или истинный септированный мицелий (рис. 98). Артроконидии не образуют. Самый крупный род среди дрожжевых грибов, включающий около 200 видов (более 20% всех известных видов дрожжей). Представляет собой искусственную, филогенетически гетерогенную группу дрожжевых и дрожжеподобных организмов без полового размножения и каких-либо иных выразительных морфологических признаков. При этом род до недавнего времени

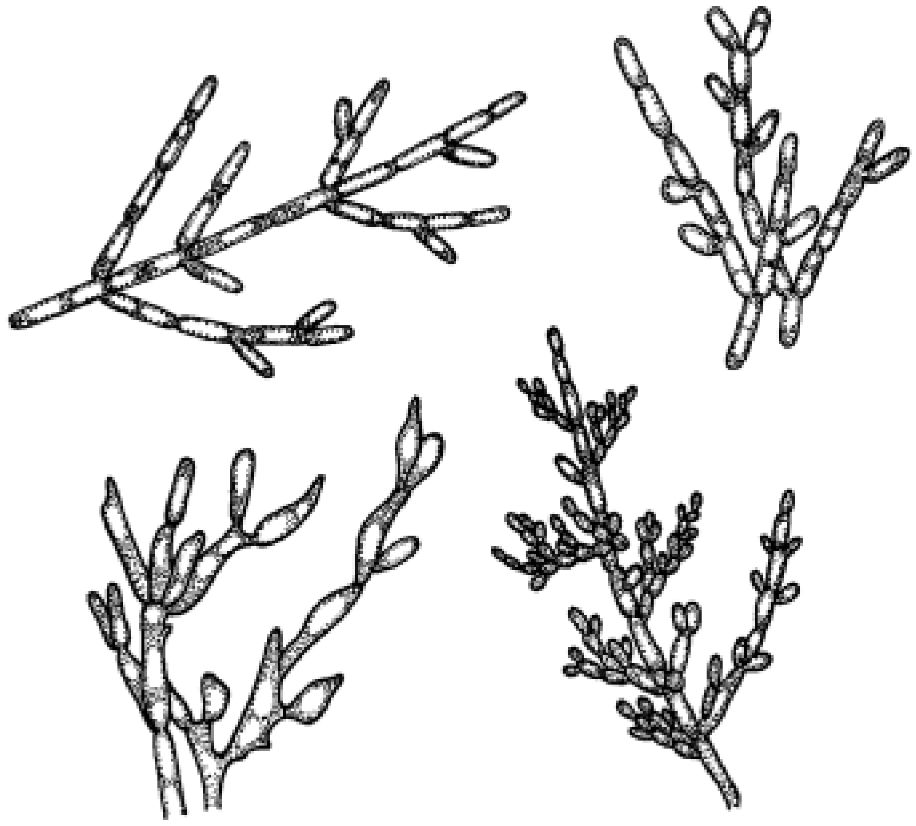


Рис. 98. Различные типы псевдомицелия у представителей рода Candida.

объединял даже анаморфы как аскомицетовых, так и базидиомицетовых дрожжей. Развитие хемо- и геносистематики позволило существенно снизить полифилетичность рода *Candida*, за счет исключения из него видов базидиомицетового аффинитета. Тем не менее, род продолжает оставаться заведомо формальным, объединяя несовершенные виды аскомицетовых дрожжей, известные и подозреваемые телеоморфы которых классифицируются по крайней мере в 16 родах.

Geotrichum

Обильный истинный мицелий, распадающийся на цилиндрические артроспоры. Редко на мицелии могут формироваться также бластоспоры. Почкующиеся клетки отсутствуют. Могут образовываться хламидоспоры и эндоспоры. Обычно не бродят. Телеоморфы классифицируются в родах *Dipodascus* (см. рис. 58) и *Galactomyces* (см. рис. 59).

Kloeckera

Овальные, удлиненные или апикулятные клетки, размножающиеся биполярным почкованием. Псевдомицелий отсутствует или слабо раз-

витый. Истинный мицелий не образуют. Сбраживают сахара. Анаморфы рода *Hanseniaspora* (см. рис. 88).

Mastigomyces

Клетки овальные, размножаются многосторонним почкованием. Некоторые клетки вытягиваются в длинные (до 30 мкм), постепенно утончающиеся отростки (рис. 99). Брожение слабое. Известен один вид - *M. philippovii*, представленный несколькими штаммами, обнаруженными на растительных субстратах в лесах Европейской части России. Выделен в самостоятельный род на основании уникальной морфологии клеток. Однако молекулярно-генетические исследования показали, что эти дрожжи близки к виду *Candida tenuis*, клетки которого не образуют подобных отростков.

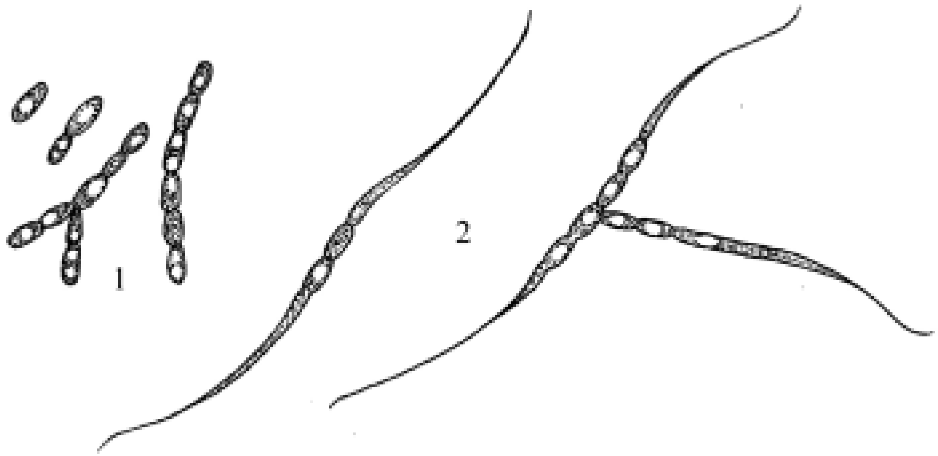


Рис. 99. Mastigomyces philippovii (=Candida tenuis): 1 – почкующиеся клетки, 2 – клетки с хлыстовидными придатками.

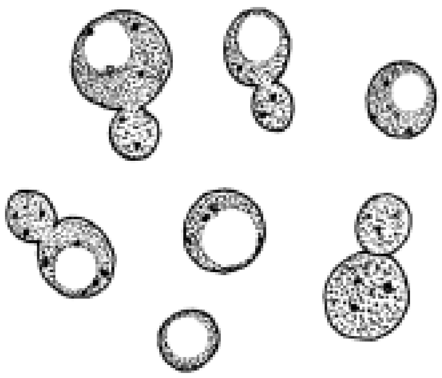


Рис. 100. Myxozyma: почкующиеся клетки.

Myxozyma

Клетки круглые или овальные. Вегетативное размножение многосторонним почкованием на узком основании (рис. 100). Может присутствовать рудиментарный псевдомицелий, но истинные гифы не об-

разуются. Сахара не сбраживают. Образуют крахмал, иногда слабо. По морфологическим и физиологическим характеристикам дрожжи этого рода близки к липомицетам. Однако сравнение нуклеотидных последовательностей рРНК показало, что виды этого рода далеки от рода *Lipomyces* за исключением одного вида *M. kluyveri*.

Schizoblastosporion

Клетки овальные, яйцевидные или грушевидные. Вегетативное размножение биполярным почкующимся делением (рис. 101). Почки образуются поочередно и при отделении оставляют на клетке широкий рубец. Псевдомицелий и истинный мицелий отсутствуют. Не бродят. Уксусную кислоту не образуют. Наиболее известный вид этого рода *S. starkeyi-henricii* выделяется только из болотных почв.

Рис. 101. Schizoblastosporion starkeyi-henricii: клетки с монополярным почкованием.

Sympodiomyces

Клетки круглые, овальные. На клетках развиваются короткие конидиофоры с терминальными конидиями, которые образуются симподиально и при отделении оставляют заметные рубцы (рис. 102). Септированные гифы с бластоконидиями могут присутствовать, но их обычно мало. Сахара не сбраживают. Максимальная температура роста 25°C. Все известные штаммы единственного вида *S. parvus* выделены из воды близ Антарктического материка.

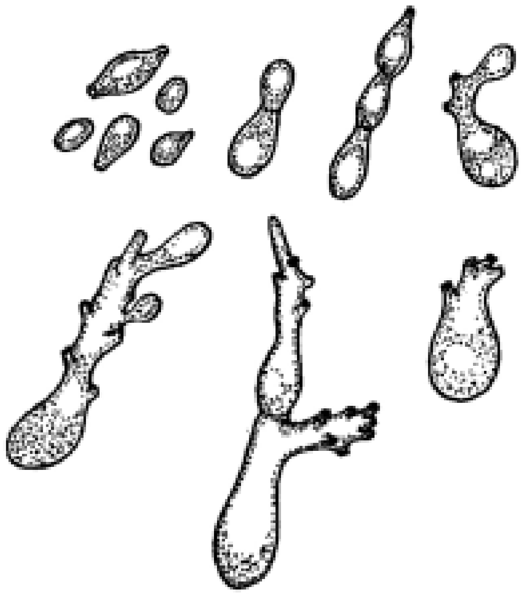


Рис. 102. Sympodiomyces parvus: клетки с симподиальным почкованием.

Trigonopsis

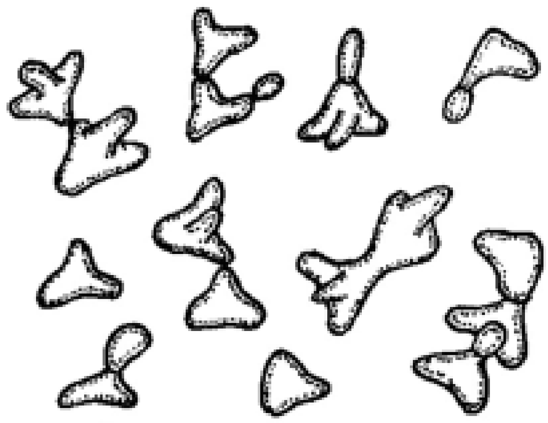


Рис. 103. Trigonopsis: треугольные почкующиеся клетки.

Клетки треугольные или эллипсовидные, бывают также ромбовидные и тетраэдрические. Почкование многостороннее у овальных клеток и по углам у треугольных (рис. 103). Псевдомицелий и истинный мицелий не образуют. Сахара не сбраживают. Описан один вид *T. variabilis*, выделенный из пива, вина и виноматериалов.

Базидиомицетовые дрожжи

Почти все грибы, обозначаемые термином «базидиомицетовые дрожжи» - это диморфные организмы, имеющие мицелиальную телеоморфную и одноклеточную почкующуюся анаморфную стадии. Одна из главных задач их классификации - выяснение филогенетических связей между базидиомицетовыми дрожжами и «истинными» мицелиальными базидиомицетами. Современная классификация диморфных базидиомицетов (табл. 5) в основном базируется на анализах нуклеотидных последовательностей рРНК. В классификации базидиомицетовых дрожжей большую роль играют такие рассмотренные выше признаки, как моносахаридный состав клеточных стенок, морфология базидий, ультраструктура септ мицелия, образование крахмалоподобных соединений, способность к ассимиляции инозита (табл. 6). Как оказалось, именно эти признаки в наибольшей степени отражают филогенетическое родство видов и достаточно хорошо коррелируют с группированием базидиомицетовых дрожжей на основании нуклеотидных последовательностей. Ультраструктурные, биохимические и молекулярно-биологические исследования, проведенные в последние десятилетия, показали, что базидиомицетовые дрожжи не являются монофилетической группой и распределены по трем основным филогенетическим линиям базидиомицетов, которые выделяются в качестве классов Hymenomycetes, Urediniomycetes и Ustilaginomycetes.

Таблица 5. Классификация некоторых родов базидиомицетовых дрожжей.

Класс Urediniomycetes	
Leucosporidium	*Sporidiobolus*
Rhodosporidium	*Erythrobasidium*
Класс Ustilaginomycetes	
Головневые грибы (порядки Ustilaginales, Tilletiales)	
Ustilago и др.	
Порядок Malasseziales	
Malassezia	
Класс Hymenomycetes	
Tremella	*Cystofilobasidium*
Bulleromyces	*Mrakia*
Filobasidiella	*Sterigmatosporidium*
Filobasidium	*Xanthophyllomyces*
Itersonilia	
Анаморфные роды базидиомицетового аффинитета	
Bensingtonia	*Pseudozyma*
Bullera	*Rhodotorula*
Cryptococcus	*Sporobolomyces*
Fellomyces	*Sterigmatomyces*
Hyalodendron	*Trichosporon*
Kockovaella	*Tsuchiyaea*
Kurtzmanomyces	*Udeniomyces*

Таблица 6. Фенотипические признаки, позволяющие дифференцировать классы базидиомицетовых дрожжей в анаморфных стадиях.

Признак	Urediniomycetes	Ustilaginomycetes	Hymenomycetes
Структура септовых пор	Простые поры	Микропоры	Долипоры
Преобладающие сахара в гидролизатах КС	Манноза	Глюкоза	Глюкоза, манноза, ксилоза
Образование крахмала	-	-	+
Утилизация инозита	-	+ или -	+

Дрожжеподобные грибы, относящиеся к классу Urediniomycetes, имеют в мицелиальной стадии септы, в которых клеточная стенка постепенно сужается к центру, где располагается одна центральная пора. В гидролизатах клеточных стенок преобладает манноза, присутствует

глюкоза, могут также присутствовать фукоза и рамноза, но отсутствует ксилоза. Эти грибы не способны усваивать в качестве единственного источника углерода инозит и не образуют при росте крахмалоподобных соединений.

У представителей класса Ustilaginomycetes в септах мицелия отсутствуют простые поры, но имеются так называемые «микропоры» - тонкие каналы в септе, в районе которых септа не утончается. В клеточных стенках преобладает глюкоза, в заметном количестве присутствуют галактоза и манноза, но отсутствует ксилоза. Ассимиляция инозита варьирует, крахмалоподобные вещества не образуются.

Наконец, дрожжевые грибы, относящиеся к классу Hymenomycetes, имеют септы с долипорами - характерными утолщениями септы вокруг поры. В гидролизатах клеточных стенок преобладают глюкоза, манноза и ксилоза. Подавляющее большинство видов усваивает инозит и образуют крахмалоподобные соединения.

Класс Urediniomycetes

Наиболее известными представителями этого класса, имеющими большое практическое значение, являются **ржавчинные грибы** (порядок Uredinales) - широко распространенные облигатные паразиты многих растений, включая сельскохозяйственные. Однако дрожжевые стадии у ржавчинных грибов практически не встречаются. В то же время, некоторые родственные ржавчинным грибам сапротрофные роды широко известны именно как дрожжи, так как в цикле их развития имеется гаплоидная дрожжевая стадия, которая, по-видимому, может даже существенно преобладать в природных местообитаниях.

Leucosporidium

Колонии белые, часто слизистые, каротиноидных пигментов не образуют. Почкующиеся клетки овальные или удлиненные. Баллистоспоры отсутствуют. Образуют обильный псевдомицелий, иногда также истинный мицелий. Баллистоспоры не образуют. Гетероталличные с биполярной или тетраполярной системой разделения типов спаривания. После конъюгации гаплоидных клеток противоположных типов спаривания образуется истинный дикариотический мицелий с пряжками, на котором терминально или латерально формируются толстостенные телиоспоры, заполненные каплями липидов (рис. 104). Телиоспоры могут воз-

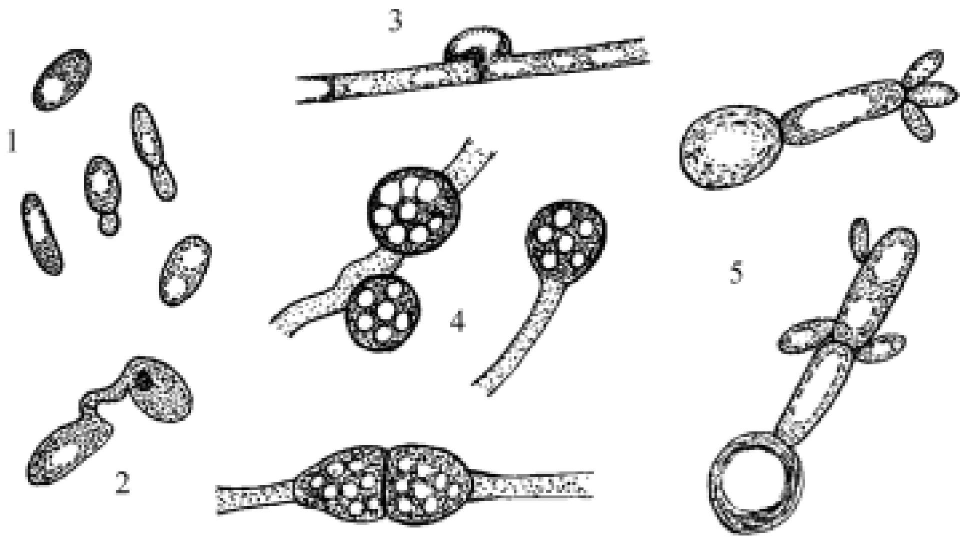


Рис. 104. Leucosporidium: 1 – почкующиеся клетки, 2 – конъюгация дрожжевых клеток, 3 – дикариотический мицелий с пряжками, 4 – телиоспоры, 5 – промицелий со споридиями.

никать и на мицелии без пряжек, без предварительной конъюгации клеток (самоспорулирующие культуры). Телиоспоры диплоидны, так как в процессе их образования происходит кариогамия. При прорастании телиоспоры происходит мейоз и формируется обычно септированный промицелий, каждая клетка которого несет одну дрожжеподобную клетку - споридию (базидиоспору). Сахара не сбраживают. Крахмалоподобные вещества не образуют. Инозит не ассимилируют. Некоторые представители рода - психрофилы, не растут при температуре выше 20°С.

Rhodosporidium

Колонии красные, розовые или оранжевые за счет присутствия каротиноидных пигментов. Вегетативные клетки дрожжевой стадии круглые, овальные или удлиненные, размножаются многосторонним почкованием, может формироваться псевдомицелий. Баллистоспоры не образуют. Имеются как гомоталличные (самоспорулирующие), так и гетероталличные виды. Среди последних встречаются как виды с биполярной (*R. toruloides*), так и с тетраполярной (*R. dacryoidum*) системами спаривания. При смешивании совместимых типов спаривания происходит конъюгация и плазмогамия, после чего развивается мицелиальная дикариотическая стадия - септированный мицелий с пряжками. На ми-

целии формируются телиоспоры, различающиеся по форме у разных видов: они могут быть круглыми, овальными, лимоновидными, угловатыми. При прорастании спор образуется поперечно септированный промицелий, на котором латерально и терминально расположены споридии (рис. 105). Последние после отделения размножаются почкованием, восстанавливая гаплоидную стадию. Сахара не сбраживают. Крахмалоподобные вещества не образуют. Инозит не ассимилируют.

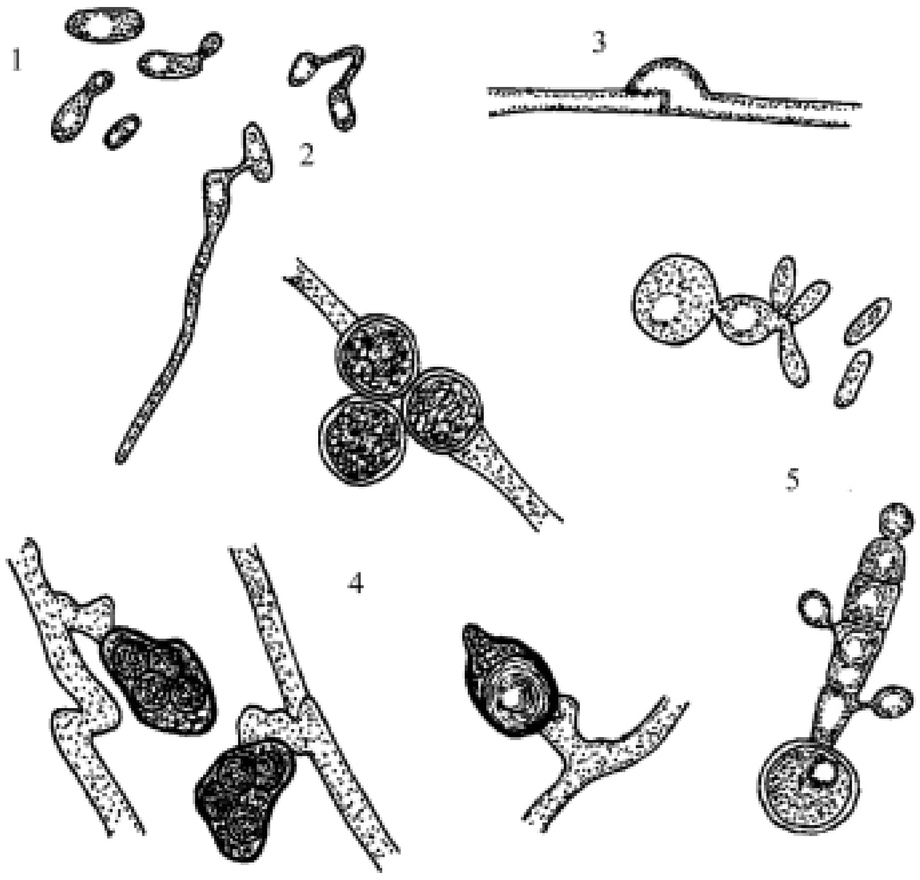


Рис. 105. Rhodosporidium: 1 – почкующиеся клетки, 2 – копуляция клеток противоположных типов спаривания и образование мицелия, 3-дикариотический мицелий с пряжками, 4 – телиоспоры у разных видов, 5 – прорастание телиоспор промицелием со споридиями.

Sporidiobolus

Колонии красные или розовые за счет присутствия каротиноидных пигментов. Дрожжевые клетки круглые или овальные, размножаются многосторонним почкованием. Могут формировать псевдомицелий или

истинный мицелий. Одиночные клетки или клетки мицелия образуют отстреливающиеся баллистоспоры на простых или ветвящихся стеригмах. Могут быть гомо- или гетероталличными. В гетероталличных культурах после смешивания противоположных типов спаривания происходит конъюгация клеток с последующим развитием дикариотического мицелия с пряжками. На мицелии интеркалярно или терминально образуются круглые коричневые телиоспоры. Последние прорастают одноклеточными или септированными базидиями (рис. 106). Базидиоспоры расположены терминально на одноклеточных базидиях и латерально на многоклеточных. У некоторых видов базидия располагается на длинной стеригме. Сахара не сбраживают. Крахмалоподобные вещества не образуют. Инозит не ассимилируют.

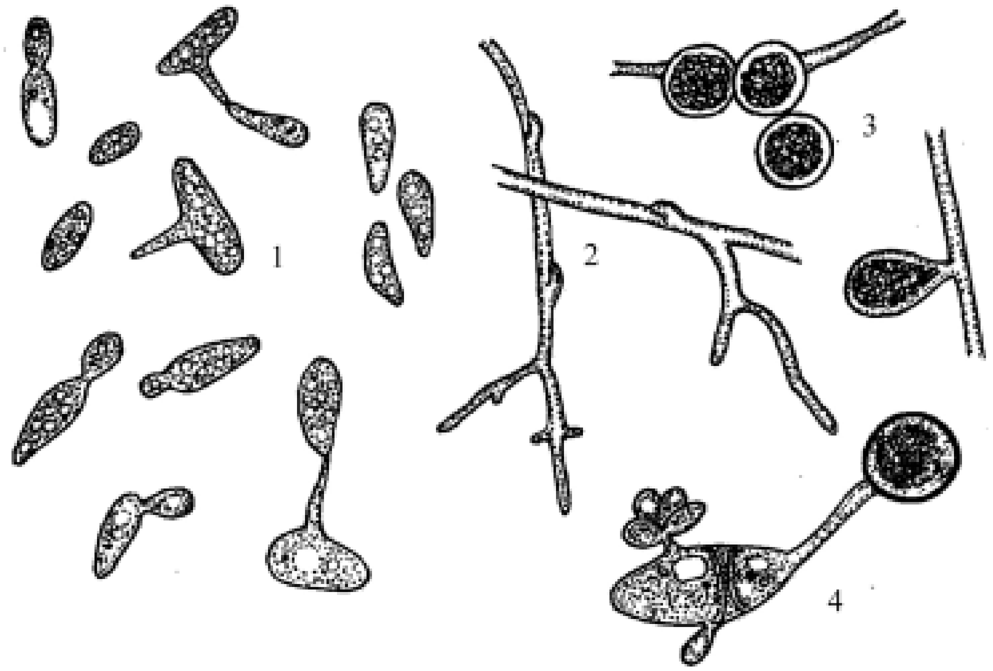


Рис. 106. Sporidiobolus: 1 – почкующиеся клетки, образующие баллистоспоры на стеригмах, 2 – дикариотический мицелий с пряжками, 3 – телиоспоры, 4 – прорастание телиоспоры промицелием со споридиями.

Erythrobasidium

Род включает один вид *E. hasegawianum* и создан для телеоморфной стадии, обнаруженной у единственного известного штамма *Rhodotorula hasegawae*, выделенного из старой пивной закваски. В дрожжевой анаморфной стадии он представлен овальными почкующимися клетками.

Колонии оранжево-красные. Гомоталличны, мицелиальная стадия развивается без скрещивания. Мицелий с пряжками или без них. Телиоспоры не образуются и непосредственно на гифах на латеральных выростах формируются одноклеточные базидии (голобазидии). На верхушке базидии терминально располагаются сидячие базидиоспоры (рис. 107). Сахара не сбраживают, инозит не ассимилируют, крахмалоподобные вещества не образуют. По характеристикам жизненного цикла (отсутствие телиоспор, несептированные базидии) эти дрожжи близки к филобазидиевым и первоначально были помещены в семейство *Filobasidiaceae*. Однако молекулярно-филогенетические исследования показали, что по нуклеотидным последовательностям 18S рРНК *E. hasegawianum* наиболее близок к роду *Rhodosporidium*.

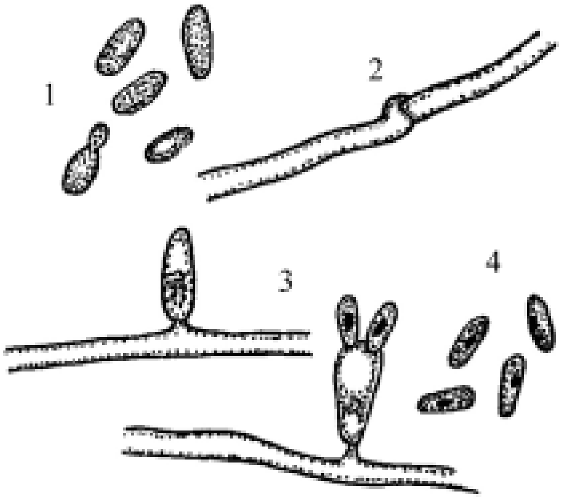


Рис. 107. Erythrobasidium hasegawianum: 1 – почкующиеся клетки, 2 –мицелий с пряжками, 3 – базидии на мицелии, 4 – базидиоспоры.

Класс Ustilaginomycetes

Представители класса Ustilaginomycetes хорошо известны как фитопатогены - так называемые **головневые грибы**, поражающие многие виды растений. Поэтому классификация этих грибов основывалась главным образом на характеристиках их взаимоотношения с растениями-хозяевами. Однако многие головневые, включая центральный род класса *Ustilago*, способны также к сапротрофному росту в виде почкующихся гаплоидных одиночных клеток. Такие сапротрофные стадии рода головневых классифицируются в анаморфном роде *Pseudozyma*.

Филогенетически близка к головневым группа дрожжевых грибов порядка Malasseziales, представленный одним родом *Malassezia*. Эта очень специфическая в экологическом отношении группа грибов, обитающих на поверхности кожи и на волосяном покрове человека и теплокровных животных (см. стр. 120-121).

Головневые грибы (Ustilaginales, Tilletiales)

Головневые грибы имеют большое экономическое значение, так как вызывают заболевания многих важных сельскохозяйственных культур, и поэтому изучались более интенсивно по сравнению с большинством других гетеробазидиальных грибов. Тем не менее, их классификация и филогенетическое положение остаются неясными. Традиционно среди этих грибов выделяли две различные группы - порядки Ustilaginales и Tilletiales, которые отличаются по морфологии базидий, строению септовых пор, типам конидиогенеза. В то же время, молекулярно-филогенетические исследования указывают на их достаточно близкое положение.

Род *Ustilago* - наибольший род в этой группе - включает около 300 видов, большинство из которых паразитирует на однодольных растениях. Паразитическая стадия представлена дикариотическим мицелием, который развивается в тканях растений-хозяев. На мицелии формируются толстостенные телиоспоры, которые обычно зимуют на остатках растений и в почве. Телиоспоры прорастают цилиндрическими, четырехклеточными базидиями. Каждая клетка базидии многократно отпочковывает базидиоспоры (споридии), которые могут почковаться и дают начало гаплоидной дрожжевой стадии. Прорастание телиоспор достаточно легко происходит у многих видов, или его можно вызвать специальными обработками типа вымачивания в воде с добавлением экстрактов растений. Гаплоидные дрожжевые клетки конъюгируют, после чего снова развивается дикариотическая стадия. В лабораторных дрожжевых культурах конъюгацию можно наблюдать довольно часто, после смешения клеток совместимых типов спаривания, но дикариофаза обычно непостоянна и лишь очень у немногих видов удалось получить в культуре полный жизненный цикл.

Некоторые роды дрожжеподобных грибов, такие как *Microbotryum*, *Leucosporidium*, *Rhodosporidium*, *Sporidiobolus*, имеют такой же жизненный цикл и поэтому их также относили к головневым грибам. Однако по нуклеотидным последовательностям рРНК они оказались более близки представителям класса Urediniomycetes. Молекулярно-филогенетические исследования показали также, что ряд анаморфных видов дрожжей, которые классифицировались в разных родах (*Candida fusiformata*, *C. tsukubaensis*, *Pseudozyma prolifica*, *Sporobolomyces antarcticus*, *Stephanoascus flocculosus*, *S. rugulosus*, *Sterigmatomyces aphidis*, *Trichosporon oryzae*), очень

близки и образуют монофилетическую группу с *Ustilago maydis* - типовым видом рода *Ustilago*. Эти виды были выделены в самостоятельный род *Pseudozyma*, который, по-видимому, следует рассматривать как род для обозначения несовершенных дрожжевых стадий головневых грибов.

Род *Tilletia*, включающий около 70 видов, представители которого главным образом паразитируют на травах, образуют при прорастании телиоспор цилиндрические базидии, несептированные или иногда нерегулярно септированные и несущие апикальные удлиненные базидиоспоры. Перед освобождением базидиоспоры часто конъюгируют, при этом непосредственно восстанавливая дикариотическое состояние. На мицелии часто формируются активно отстреливающиеся баллистоспоры. К тиллециевым, по-видимому, близки анаморфные сапротрофные дрожжеподобные грибы рода *Tilletiopsis*, которые образуют на мицелии длинные серповидные или веретеновидные баллистоспоры.

Malassezia

Комменсалы человека и теплокровных животных, обитающие на поверхности их кожи и на волосяном покрове. Могут вызывать различные заболевания кожи. Клетки овальные, удлиненные, грушевидные, ламповидные. Вегетативное размножение монополярным (у одного вида - многосторонним) энтеробластическим почкованием на широком основании (см рис. 54). После отделения почки на клетке остается шрам в вид валика. В культуре обычно одноклеточные, однако при развитии на коже животных-хозяев часто образуют мицелий с гроздями бластоспор. Клетки имеют многослойную оболочку с внешним липидным слоем. Для роста необходимо присутствие в среде жирных кислот, которые могут использоваться в качестве источника углерода, и поэтому тесты на ассимиляцию различных источников углерода не используются для дифференциации видов. Сахара не сбраживают. Преобладающий убихинон Q9. Ксилоза в гидролизатах клеток отсутствует.

Класс Hymenomycetes

Класс Hymenomycetes включает большинство видов базидиомицетовых грибов. По совокупности особенностей жизненного цикла, морфологических характеристик, а также на основании данных по секвенированию рРНК, в этом классе выделяется две различные филогенетические линии: 1) собственно гименомицетовые, объединяющие истинные мицелиальные грибы без дрожжевых стадий, большинство из которых

образует макроскопические плодовые тела; 2) тремеллоидные базидиомицеты, как правило, дрожжеподобные, то есть имеющие в цикле развития почкующуюся одноклеточную стадию. Последние по нуклеотидным последовательностям рРНК разделяются на четыре порядка: 1) *Tremellales*, включающий роды *Bullera*, *Bulleromyces*, *Fellomyces*, *Filobasidiella*, *Kockovaella*, *Sterigmatosporidium*, *Tremella*, *Tsuchiyaea* и др., 2) *Trichosporonales*, представителем которого является анаморфный род *Trichosporon*; 3) *Filobasidiales*, включающий род *Filobasidium*, 4) *Cystofilobasidiales*, с родами *Cystofilobasidium*, *Mrakia*, *Udeniomyces*, *Xanthophyllomyces* и др. Ниже приводится характеристика наиболее известных родов гименомицетовых дрожжевых грибов.

Tremella

В природе грибы этого и некоторых других близких родов (*Holtermannia*, *Trimorphomyces*, *Sirotrema*, *Phyllogloea*, *Fibulobasidium*, *Sirobasidium*) развиваются, в основном, на мертвой древесине, по-видимому, как паразиты на других грибах. На мертвых стволах и ветках они формируют студенистые плодовые тела (см. рис. 37). В культурах отдельные базидиоспоры гетероталличных видов могут размножаться вегетативно почкованием или формированием баллистоспор и давать начало дрожжевым стадиям (рис. 108). Дрожжевые колонии сероватого-белые,

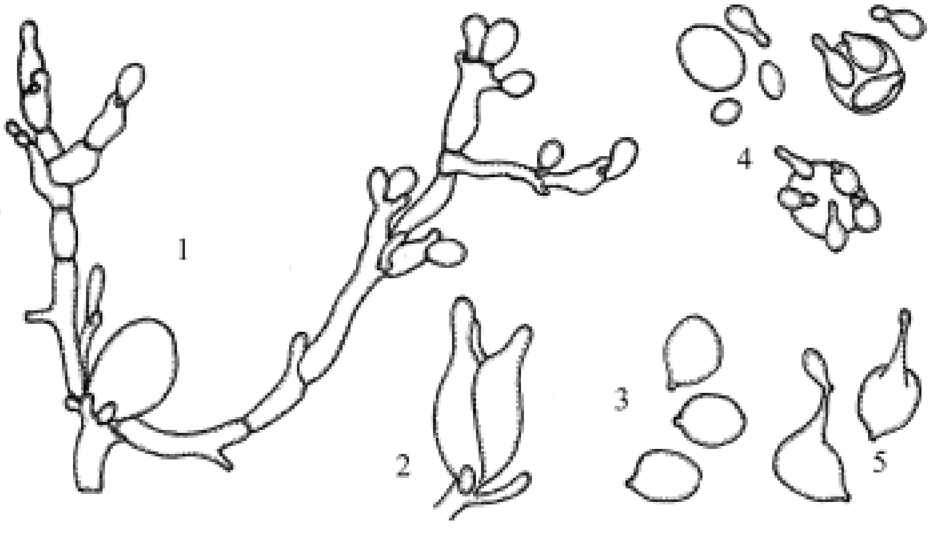


Рис. 108. Tremella: 1 – часть гимения, включающая пробазидию, 2 – зрелая базидия, 3 – базидиоспоры, 4 – почкующиеся клетки, образующиеся при прорастании базидиоспор, 5 – базидиоспоры, прорастающие баллистоконидиями.

желтоватые, кремовые, буровато-серые, часто слизистые. Не бродят, ассимиляция инозита и способность к образованию крахмалоподобных соединений варьируют в зависимости от вида. Гетероталличные, смешение соответствующих типов спаривания приводит к их копуляции. Почкование прекращается, развиваются конъюгационные трубки, через которые клетки соединяются, и развивается мицелиальная дикариотическая стадия. У некоторых видов непосредственно в лабораторной культуре в подходящих условиях вскоре после формирования дикариотического мицелия начинается развитие плодовых тел. В поверхностном гимении плодового тела образуются 2-4-клеточные базидии. Каждая клетка базидии несет трубчатый вырост (эпибазидию), на котором формируется отстреливающаяся базидиоспора. Нередко близко расположенные совместимые базидиоспоры конъюгируют с восстановлением дикариотического состояния.

Bulleromyces

Колонии кремовые, маслянистые или слизистые. Клетки овальные до цилиндрических. Почкование полярное, почки сидячие или на коротких зубчиках. Образуют баллистоспоры, круглые или овальные, обладающие круговой симметрией. Телеоморфная стадия может развиваться в результате скрещивания клеток противоположных типов спаривания, однако встречаются также гомоталличные самоспорулирующие штаммы. Дикариотические гифы регулярно ветвятся, с пряжками и гаусториеподобными выростами. Септы имеют долипоры с парентосомами. Непосредственно на мицелии развиваются базидии. Базидии округлые, булавовидные или овальные, после кариогамии становятся продольно, наклонно или поперечно разделенными септами на 2 или 4 клетки. Базидии могут прорастать либо почкованием, либо гифами, в последнем случае на гифах формируются баллистоспоры или отпочковываются дрожжевые клетки. Не бродят. Инозит ассимилируют, крахмалоподобные вещества образуют. Ксилоза присутствует в гидролизатах клеток. Преобладающий убихинон Q-10. Род создан для совершенной стадии единственного вида *B. albus*, ранее классифицировавшегося в роде *Bullera*.

Filobasidiella

Колонии белые или кремовые, обычно слизистые, видимых каротиноидных пигментов не образуют. Гаплоидные почкующиеся клетки круг-

лые или овальные, обычно с полисахаридными капсулами. Псевдомицелий или истинный мицелий в гаплоидной стадии отсутствует. Половое размножение начинается слиянием клеток противоположного типа спаривания. Система спаривания биполярная, конъюгируют клетки a и α типов. После конъюгации образуются дикариотические гифы с пряжками. Септы мицелия имеют типичные долипоры без парентосом. Плодовых тел не образуют. На гифах латерально или терминально образуются узкие голобазидии с раздутой вершиной. На верхушке базидии из четырех локусов формируются базипетальные цепочки базидиоспор (рис. 49, 109). Брожение отсутствует. Инозит ассимилируют, крахмалоподобные вещества образуют. Род был описан после обнаружения телеоморфной стадии у хорошо известного вида несовершенных дрожжей *Cryptococcus neoformans*, являющегося возбудителем опасного заболевания - криптококкоза.

Filobasidium

Колонии белые, кремовые, иногда бледно розовые, обычно слизистые. Почкующиеся клетки круглые, овальные или удлиненные. Могут формировать псевдомицелий или истинный мицелий. Гетероталличные. Половое размножение начинается слиянием клеток противоположных типов спаривания (a и α). После конъюгации развивается дикариотический мицелий с пряжками, на котором терминально или латерально формируются вытянутые удлиненные одноклеточные базидии (голобазидии). На верхушке базидии располагаются сидячие базидиоспоры, напоминающие изогнутые лепестки, что при-

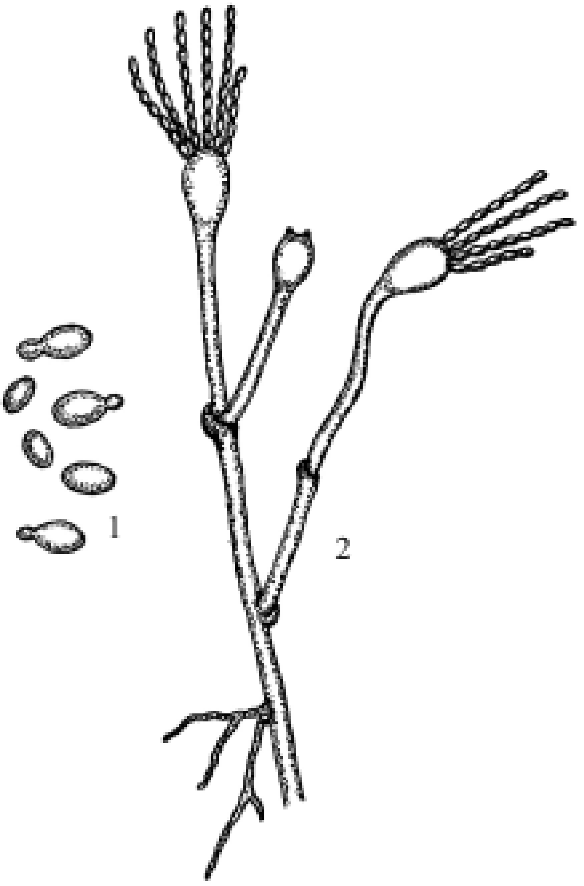


Рис. 109. Filobasidiella neoformans: 1 – дрожжевые почкующиеся клетки (Cryptococcus neoformans), 2 – мицелий с базидиями и базидиоспорами.

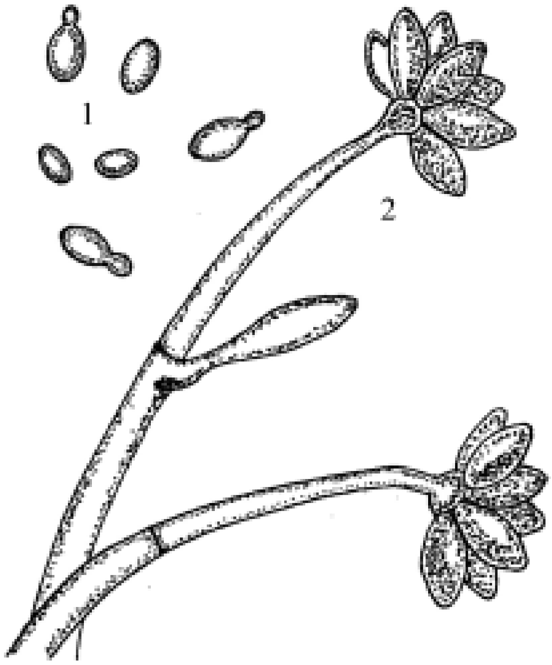


Рис. 110. Filobasidium: 1 – почкующиеся клетки, 2 – базидии с базидиоспорами.

дает базидии сходство с цветком (рис. 110). Септы мицелия с типичными долипорами без парентосом. Не бродят. Инозит ассимилируют или не ассимилируют, крахмалоподобные соединения образуют.

Itersonilia

Колонии кремовые, матовые, с мицелием по краю. Обильный септированный мицелий, дикариотический с пряжками, реже монокариотический с незаконченными пряжками. Септы мицелия с долипорами без парентосом. На дикариотическом мицелии терминально или интеркалярно формируются круглые, овальные или грушевидные клетки с несколько утолщенной оболочкой («спорогенные клетки»), служащие аналогами базидий (рис. 111). При прорастании спорогенных клеток образуются билатерально симметричные баллистоконидии, серповидные, грушевидные. Прорастающие баллистоконидии об-

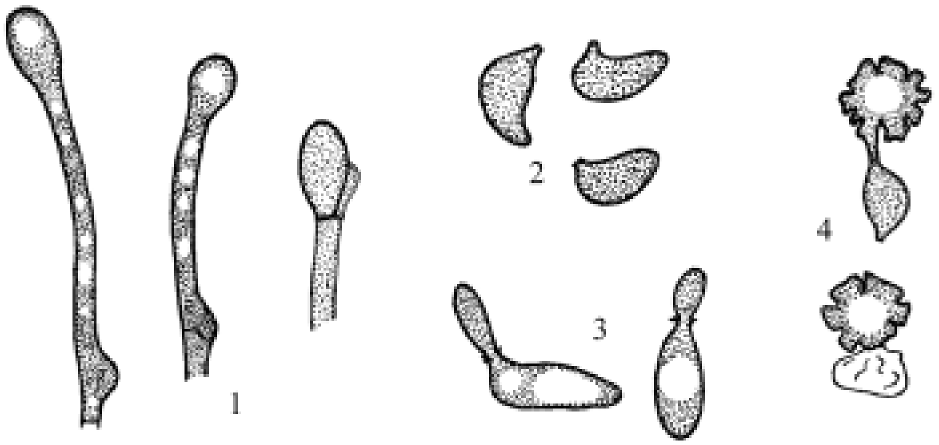


Рис. 111. Itersonilia: 1 – дикариотический мицелий со спорогенными клетками, 2 – баллистоконидии, 3 – почкующиеся клетки, 4 – баллистоспоры с апрессориями.

разуют апрессории и могут развивать вторичные баллистоконидии, формируя монокариотическую дрожжевую фазу. Не бродят. Крахмалоподобные соединения не образуют. Ксилоза присутствует в гидролизатах клеток. Преобладающий убихинон Q-9.

Cystofilobasidium

Колонии у большинства видов оранжевые, розово-красные за счет присутствия каротиноидных пигментов. Дрожжевая фаза в виде одиночных овальных или удлиненных полярно почкующихся клеток, которые могут быть гаплоидными или диплоидными. Баллистоспоры не образуют. У некоторых видов может формироваться примитивный псевдомицелий. Гомо- или гетероталличны. Телеоморфная стадия, которая развивается непосредственно или после конъюгации клеток противоположных типов спаривания, представлена септированным мицелием с пряжками. Септы мицелия имеют долипоры без парентосом. На мицелии интеркалярно или терминально образуются круглые, толстостенные темнопигментированные телиоспоры. При прорастании телиоспор формируются тонкие трубчатые или короткие грушевидные несептированные базидии с терминальными сидячими базидиоспорами (рис. 112). Могут слабо сбраживать сахара. Инозит ассимилируют, крахмалоподобные вещества образуют.

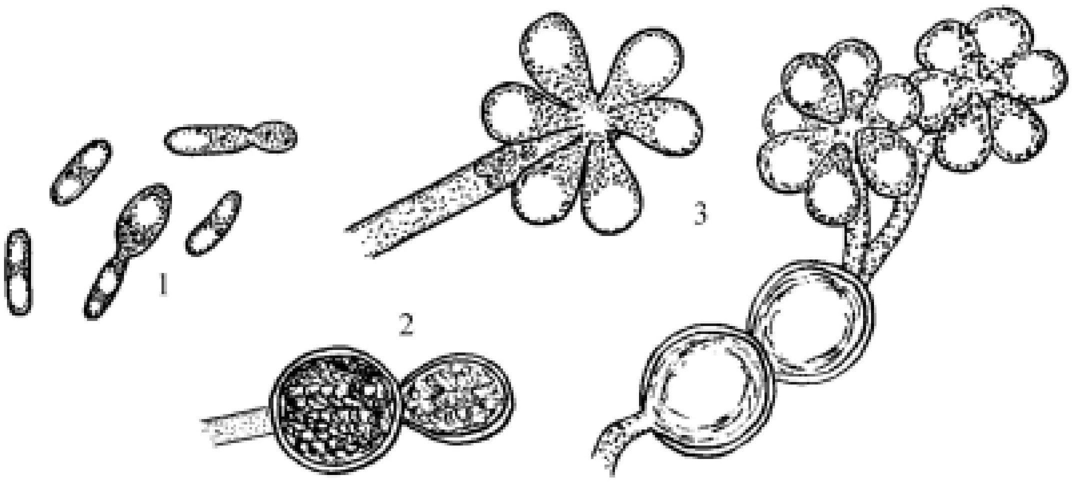


Рис. 112. Cystofilobasidium: 1 – дрожжевые клетки, 2 – телиоспоры, 3 – телиоспоры, проросшие промицелием со споридиями.

Mrakia

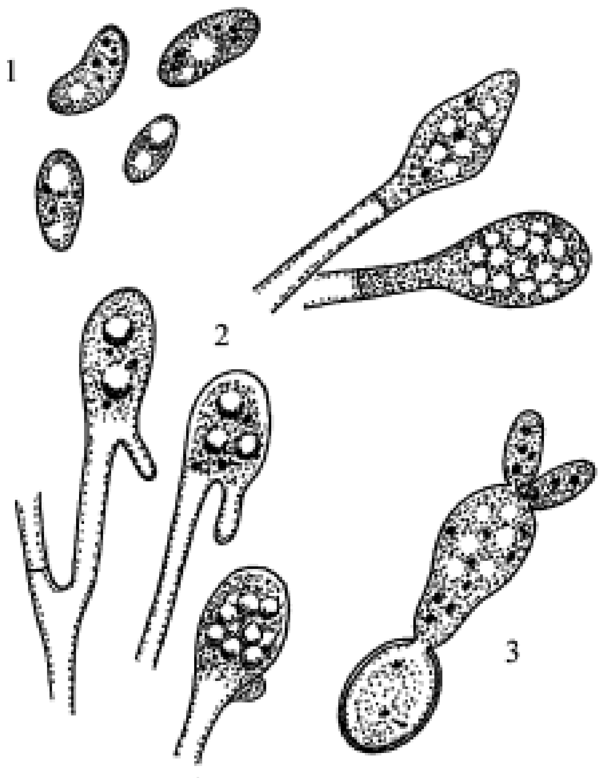


Рис. 113. Mrakia: 1 – дрожжевые клетки, 2 – телиоспоры, 3 – телиоспоры, проросшие промицелием со споридиями.

Колонии белые до кремовых, часто слизистые. В дрожжевой фазе клетки овальные или удлиненные, размножаются почкованием, обычно формируют псевдомицелий. Мицелиальная фаза развивается без предварительной конъюгации клеток. Гифы одноядерные, без пряжек. Септы мицелия с долипорами без парентосом. На гифах образуются толстостенные круглые телиоспоры, прорастающие 1-3-клеточными базидиями. На базидии латерально или терминально расположены овальные базидиоспоры (рис. 113). Могут сбраживать глюкозу. Инозит не ассимилируют. Образуют крахмалоподобные соединения. Психрофилы, максимальная температура роста у большинства штаммов не превышает 22-25°C.

Sterigmatosporidium

Колонии кремовые, слизистые. Дрожжевые клетки овальные или удлиненные, почки образуются на длинных выростах (стеригмах) и отделяются септой, которая закладывается на дистальном конце стеригмы. Образуют псевдомицелий и истинный дикариотический мицелий с пряжками. На мицелии формируются толстостенные клетки, напоминающие телиоспоры, но дикариотические. Они могут прорастать одноклеточными структурами, подобными базидиям. Не бродят. Инозит ассимилируют, крахмалоподобные соединения образуют. Ксилоза присутствует в гидролизатах клеток. Преобладающий убихинон Q-10.

Xanthophyllomyces

Колонии оранжево-красные за счет присутствия каротиноидных пигментов. Клетки круглые или коротковальные, размножаются почкованием. В старых культурах клетки превращаются в хламидоспоры. Истинный мицелий отсутствует. Половой процесс включает конъюгацию клетки с собственной почкой. После конъюгации зигота прорастает узкой цилиндрической базидией. Базидиоспоры расположены на базидии терминально на небольших выростах (рис. 114). Базидиоспоры не отстреливающиеся, прорастают почкованием. Сбраживают глюкозу. Инозит не ассимилируют. Образуют крахмалоподобные соединения. В роде единственный вид - *X. dendrorhous*, анаморфа которого известна под названием *Phaffia rhodozyma*. Местообитание этого вида - весенние сокотечения деревьев. Используются для получения астаксантина, применяемого в качестве кормовой добавки при выращивании лососевых рыб.

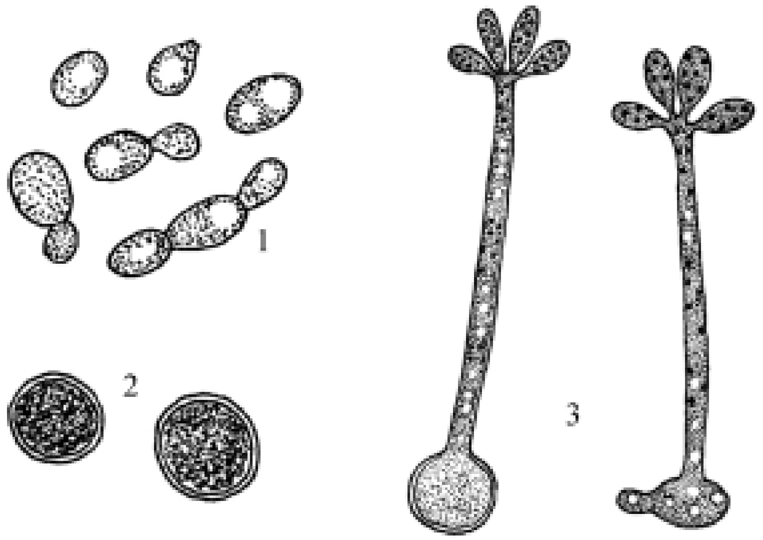


Рис. 114. Xanthophylomyces dendrorhous: 1 – вегетативные почкующиеся клетки (Phaffia rhodozyma); 2 – хламидоспоры в старых культурах, 3 – цилиндрические базидии с базидиоспорами.

Анаморфные роды базидиомицетового аффинитета

Так же как и среди аскомицетовых дрожжей, среди базидиомицетовых многие виды известны только в анаморфном состоянии. Сравнение нуклеотидных последовательностей рРНК показало, что несовершенные дрожжи базидиомицетового аффинитета включают представителей всех

трех рассмотренных выше классов: Urediniomycetes, Ustilaginomycetes и Hymenomycetes. Многовидовые анаморфные роды базидиомицетов представляют собой филогенетически очень гетерогенные группы. Например, различные виды рода *Cryptococcus* оказались родственными видам в родах *Tremella*, *Filobasidium*, *Cystofilobasidium*. Виды рода *Rhodotorula* представляют собой анаморфы родов *Sporidiobolus*, *Rhodosporidium*, *Erythrobasidium*.

Bensingtonia

Колонии белые, кремовые, бледно-розовые, коричневатые или серовато-красные. Клетки овальные или удлиненные. Почкование в основном на полюсах клеток, почки сидячие или на коротких зубчиках. Образуют двусторонне симметричные баллистоспоры: прямые или искривленные, апикулятные, овальные, миндалевидные, серповидные или почковидные. Могут формировать псевдомицелий или истинный мицелий. Септы мицелия с простыми порами. Не бродят. Инозит не ассимилируют. Крахмалоподобные соединения не образуют. Ксилоза в гидролизатах клеток отсутствует. Преобладающий убихинон Q-9.

Bullera

Колонии белые, кремовые, коричневатые, оранжевые или красные, слизистые или сухие. Клетки круглые, овальные или удлиненные. Почкование в основном полярное, почки сидячие или на коротких зубчиках. Образуют баллистоспоры (рис. 115). Баллистоспоры радиально или двусторонне симметричные, круглые, эллипсоидальные, иногда слегка угловатые, почковидные, каплевидные или серповидные. Могут образовывать псевдомицелий или истинный мицелий. Не бродят. Ксилоза присутствует в гидролизатах клеток. Преобладающий убихинон Q-10.

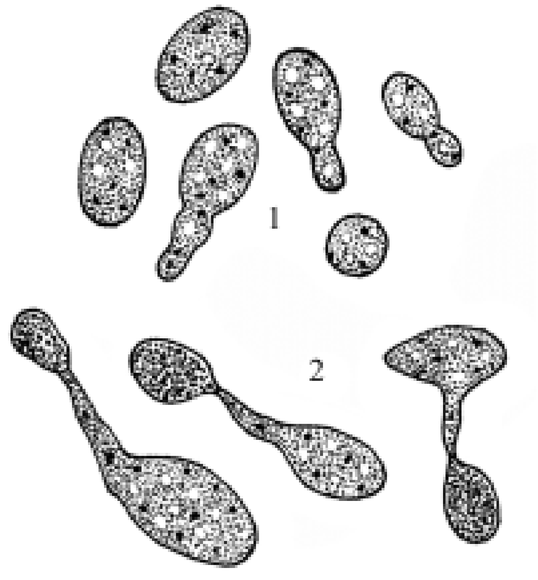


Рис.115. Bullera: 1 – почкующиеся клетки, 2 – клетки с баллистоспорами.

Cryptococcus

Колонии белые или кремовые, некоторые красные, желтые, оранжевые или бледно-розовые, у большинства видов слизистые. Клетки преимущественно круглые, овальные или удлиненные, обычно капсулированные (рис. 116). Вегетативное размножение полярным или многосторонним почкованием. Могут формировать псевдомицелий или истинный мицелий. Все виды ассимилируют инозит (или D-глюкуроновую кислоту), большинство видов образует крахмалоподобные соединения. Ксилоза присутствует в гидролизатах клеток. Преобладающий убихинон Q-9 или Q-10. Распространены повсеместно, один из наиболее часто встречающихся родов дрожжей в почвах и на растениях во всех природных зонах. В роде *Cryptococcus* классифицируются анаморфы родов *Filobasidium*, *Filobasidiella*, *Cystofilobasidium* и других телеоморфных родов из порядков Tremellales и Filobasidiales, а также виды с неизвестными телеоморфными стадиями.

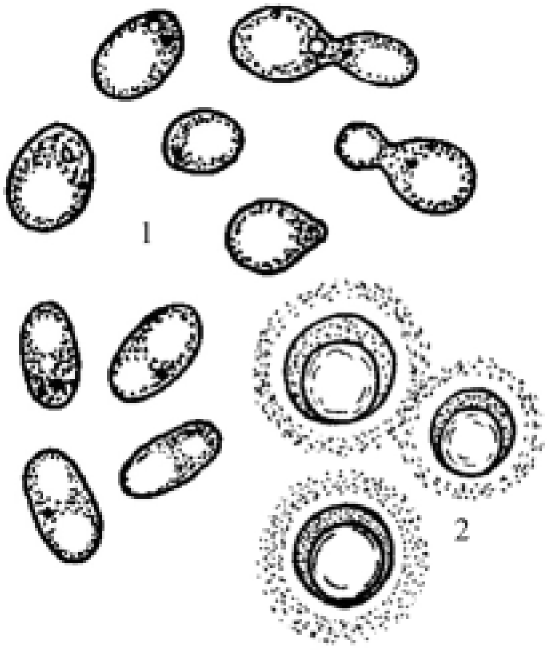


Рис. 116. Cryptococcus: 1 – молодые почкующиеся клетки, 2 – клетки с капсулами.

Fellomyces

Клетки круглые до эллипсоидальных. Почки образуются по одной на концах стеригм и отделяются после закладки септы на дистальном конце стеригмы (рис. 20, 117). Длина стеригм может достигать 4 мкм.

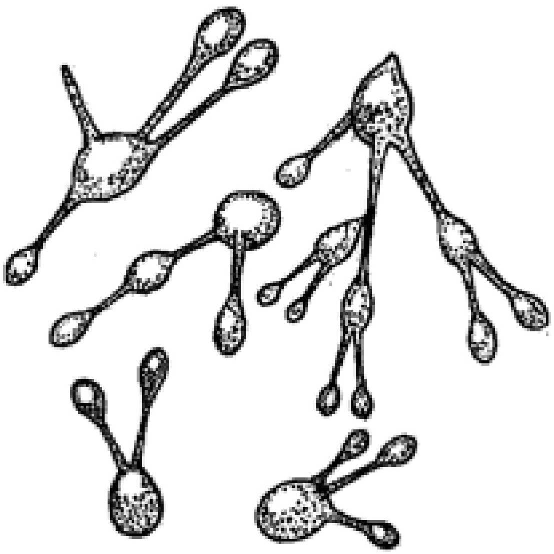


Рис. 117. Fellomyces penicillatus: клетки с почками на выростах.

Может формироваться истинный мицелий. Баллистоспоры не образуют. Не бродят. В гидролизатах клеток присутствует ксилоза. D-глюкуроновую кислоту и инозит ассимилируют. Преобладающий убихинон Q-10.

Kockovaella

Колонии сероватые, серовато-желтые, серовато-оранжевые. Клетки круглые, короткоовальные или почковидные, способны к трем типам размножения: обычным почкованием (редко), образованием почек на тонких выростах (стеригмах) и формированием баллистоспор (рис. 118). Баллистоспоры круглые, реповидные, почковидные или эллипсоидальные. Мицелий и псевдомицелий не образуют. Сахара не сбраживают. Ксилоза присутствует в гидролизатах клеток. Преобладающий убихинон Q-10.

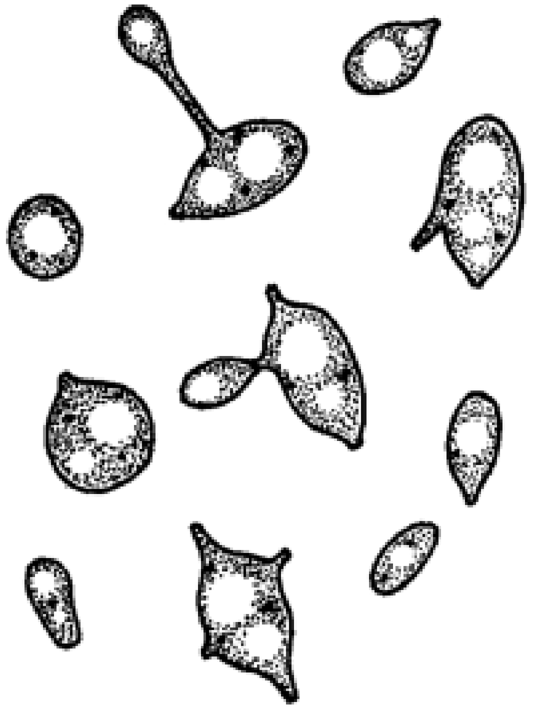


Рис. 118. Kockovaella: клетки, образующие почки на выростах.

Kurtzmanomyces

Клетки круглые, овальные или цилиндрические. Конидии (почки) образуются по одной на вершинах стеригм и отделяются после закладки септы на дистальном конце стеригмы. Иногда стеригмы удлиняются и ветвятся, в этом случае могут формироваться дополнительные почки. Образуют истинный мицелий. Баллистоспоры не образуют. Не бродят. Инозит не ассимилируют. Крахмалоподобные соединения не образуют. Ксилоза в гидролизатах клеток отсутствует. Преобладающий убихинон Q-10. Выделен из рода *Fellomyces* на основании отсутствия ксилозы в гидролизатах клеток.

Pseudozyma

Колонии серовато-белые, розовые, оранжевые или коричневатые, обычно с центральной дрожжевой частью и субстратным и воздушным мицелием по краю. Клетки вариабельны по форме, чаще овальные или

удлиненные. Мицелий с перетяжками в районе септ. Часто наблюдается отделение цитоплазмы внутри лизирующихся клеток. На мицелии формируются веретеновидные бластоконидии на длинных зубчиках и акропетальные цепочки конидий. Могут присутствовать хламидоспоры. Баллистоспоры не образуют. Сахара не сбраживают. Ассимилируют инозит. Крахмалоподобные соединения не образуют. Ксилоза в гидролизатах клеток отсутствует. Преобладающий убихинон Q-10. Виды *Pseudozyma* ранее классифицировались в различных родах несовершенных дрожжей (*Sporobolomyces*, *Candida*, *Sterigmatomyces*, *Stephanoascus*), но были объединены в одном роде на основании более детальных сравнительных исследований и молекулярно-биологических характеристик. Сравнение нуклеотидных последовательностей рРНК позволяет предположить, что они являются анаморфными стадиями головневых грибов.

Rhodotorula

Колонии красные, розовые, оранжевые или белые и кремовые. Клетки круглые, овальные или удлиненные, у некоторых видов веретеновидные, сигаровидные (рис. 119). Вегетативное размножение многосторонним или полярным почкованием. Могут формировать псевдомицелий или истинный мицелий. Баллистоспоры не образуют. Не бродят. Инозит не ассимилируют или ассимилируют инозит, но не D-глюкуроновую кислоту. Крахмалоподобные соединения не образуют. Ксилоза в гидролизатах клеток отсутствует. Преобладающий убихинон Q-9 или Q-10. Сборный полифилетический род, известные телеоморфы некоторых видов классифицируются в родах *Rhodosporidium*, *Leucosporidium*.

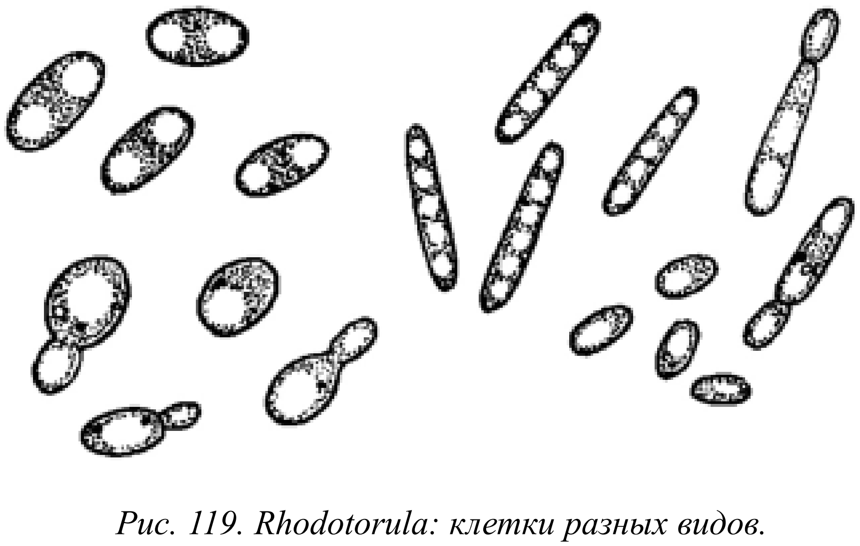


Рис. 119. Rhodotorula: клетки разных видов.

Sporobolomyces

Колонии розовые, оранжево-красные, кремовые или желтовато-коричневые. Клетки овальные, веретеновидные или удлиненные. Почкование в основном полярное, реже многостороннее, почки сидячие или на коротких зубчиках. Образуют баллистоспоры, иногда очень активно. Баллистоспоры двусторонне симметричные, аллантоидные, фасолевидные, миндалевидные, каплевидные, серповидные. Могут образовывать псевдомицелий или истинный мицелий. Не бродят. Ксилоза в гидролизатах клеток отсутствует. Преобладающий убихинон Q-10. Ряд видов - анаморфы рода *Sporidiobolus* (см. рис. 106).

Sterigmatomyces

Колонии белые или кремовые. Клетки круглые или овальные, при вегетативном размножении образуют 1-2 конидиогенные стеригмы до 3 мкм длиной. Конидии (почки) развиваются на концах этих стеригм. Почки также могут образовывать стеригмы с конидиями, что приводит к формированию коротких разветвленных цепочек клеток (рис. 120). Отделение почки происходит после закладки септы в центральной части стеригмы. Мицелий отсутствует. Баллистоспоры не образуют. Не бродят. Инозит ассимилируют. Ксилоза в гидролизатах клеток отсутствует. Преобладающий убихинон Q-9.

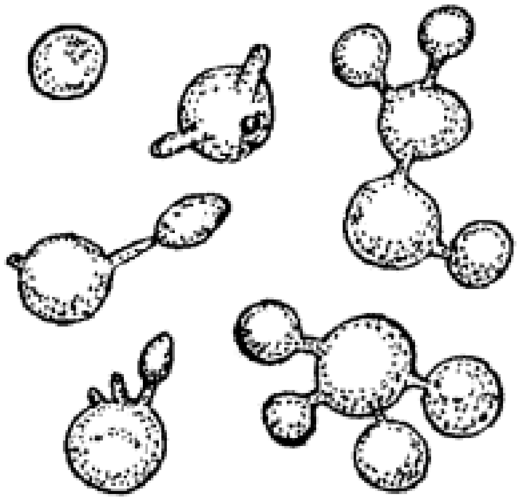


Рис. 120. Sterigmatomyces halophilus: клетки с почками на выростах.

Trichosporon

Колонии кремовые, слизистые или сухие. Образуют обильный септированный мицелий, распадающийся на артроспоры (рис. 121). На мицелии могут формироваться также бластоконидии, разветвленные апрессории, в клетках мицелия - эндоспоры. Почкующиеся клетки и псевдомицелий, как правило, отсутствуют. Септы мицелия с долипорами. Не бродят. Преобладающий убихинон Q-9 или Q-10. В гидролизатах клеток присутствует ксилоза. Филогенетически гетерогенный род, который ранее включал виды как

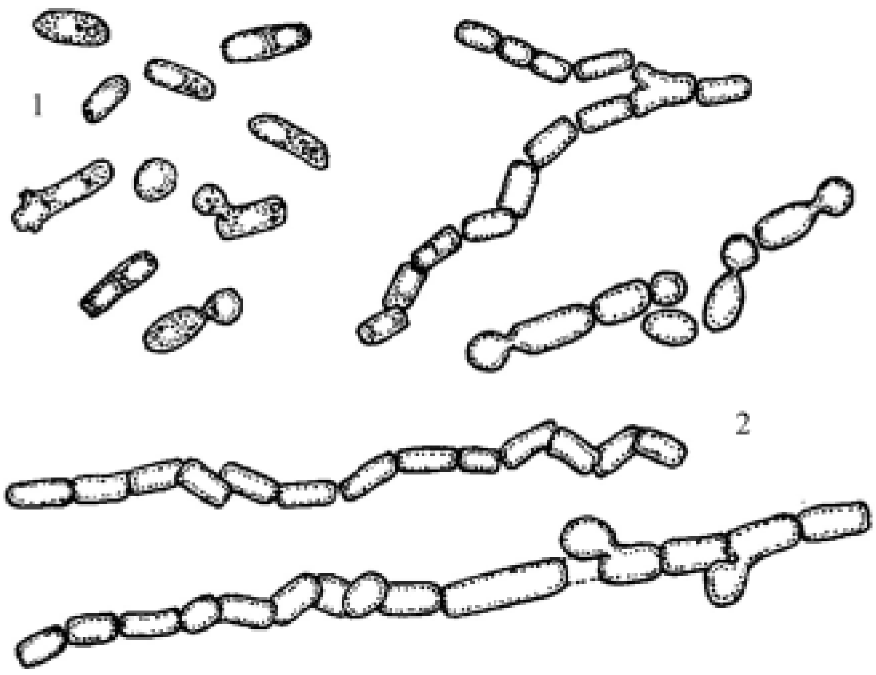


Рис. 121. Trichosporon: 1 – почкующиеся клетки, 2 – мицелий, распадающийся на артроспоры.

аскомицетового, так и базидиомицетового аффинитета. В настоящее время объединяет только анаморфные виды базидиомицетового аффинитета, характеризующиеся обильным образованием артроконидий.

Tsuchiyaea

Род создан для единственного вида *T. wingfieldii*, ранее классифицировавшегося в роде *Sterigmatomyces*. В отличие от видов последнего рода, *T. wingfieldii* способен к вегетативному размножению как с помощью формирования конидий на специальных выростах (стеригмах), так и с помощью энтеробластического почкования, а также характеризуется наличием ксилозы в гидролизатах клеток.

Udeniomyces

Род создан для нескольких видов, ранее классифицировавшихся в роде *Bullera*, но отличающихся от других видов этого рода рядом существенных фенотипических признаков и нуклеотидными последовательностями рРНК. Колонии бледноокрашенные, кремовые или розоватые. Клетки овальные или удлиненные, могут вытягиваться в короткие гифы. Образуют очень крупные двусторонне симметричные (каплевидные, булавовидные) баллистоспоры до 15 мкм в диаметре. В гидролизатах клеток присутствует ксилоза.

Идентификация дрожжей

Определение видовой принадлежности дрожжей - сложная процедура, требующая не только большого опыта, но и, как правило, достаточно длительных лабораторных исследований, связанных с постановкой серии тестов для определения рассмотренных выше морфологических, физиологических и биохимических признаков. Лишь после составления достаточно полного описания штамма возможна его надежная видовая идентификация. В последнее время для идентификации дрожжей по таким описаниям, наряду с традиционными дихотомическими ключами, широко используются компьютерные технологии нумерической идентификации. Такая идентификация может осуществляться на основе любой СУБД (средство управления базами данных), в которую внесены стандартизованные признаки всех видов дрожжей. В процессе идентификации программа поочередно сравнивает описание идентифицируемого штамма с описанием каждого вида и высчитывает уровень сходства (долю совпавших признаков от общего количества использованных признаков). Результирующая информация представляет собой список видов, ранжированный по уровню сходства с идентифицируемым штаммом. Существуют специализированные программы для идентификации дрожжей. Некоторые коллекции дрожжей предоставляют возможность поиска наиболее сходных штаммов с использованием Интернета (например, http://www.cbs.knaw.nl). В последние годы бурно развивается система генобанков, доступных через Интернет (например, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/), позволяющих искать наиболее сходные нуклеотидные последовательности. Однако следует помнить, что при идентификации с использованием таких формальных процедур возможны серьезные ошибки, поэтому для надежного определения вида дрожжей необходима консультация со специалистом-систематиком, имеющим большой опыт изучения разнообразия этих организмов. В первую очередь это относится к идентификации штаммов, выделенных из природных местообитаний.

Приведенные ниже идентификационные ключи для определения рода составлены на основе существующих определителей дрожжей и основаны главным образом на использовании морфологических и некоторых физиологических признаков. Определение аскомицетовых и базидиомице-

товых дрожжей проводится по разным критериям, поэтому первое, что необходимо установить при идентификации дрожжевой культуры - ее аффинитет, то есть принадлежность к аско- или базидиомицетовым грибам. Для этого исследуется совокупность признаков аффинитета, рассмотренная выше (см. табл. 3). Для определения видов внутри найденного рода следует обратиться к определителям.

Ключ для определения родов аскомицетовых дрожжей

1	а	Облигатные паразиты других организмов, не культивируются на лабораторных средах	2
	б	Виды, способные к росту на лабораторных средах	3
2	а	Облигатные паразиты грибов, образуют на мицелии аски со шляповидными аскоспорами	*Endomyces*
	б	Внутриклеточные паразиты в клетках эпителия кишечника дрозофил. Образуют удлиненные аски с веретеновидными аскоспорами	*Coccidiascus*
3	а	Вегетативное размножение исключительно путем деления	4
	б	Вегетативное размножение преимущественно почкованием или почкующимся делением	7
4	а	Одноклеточные, мицелий не образуют	*Schizosaccharomyces*
	б	Преимущественно мицелиальные, дрожжевые колонии возникают за счет дробления мицелия на отдельные клетки	5
5	а	Аскоспор не образуют	*Geotrichum*
	б	Аскоспоры образуют	6
6	а	Аски сферические, содержат одну аскоспору, которая быстро освобождается после разрушения стенки аска	*Galactomyces*
	б	Аски цилиндрические, открываются отверстием на вершине, содержат 4-100 эллипсоидальных аскоспор	*Dipodascus*
7	а	Вегетативное размножение исключительно биполярным почкованием на широком основании (почкующееся деление), клетки апикулятные	8
	б	Вегетативное размножение многосторонним истинным почкованием на узком основании	11
8	а	Аскоспоры образуют	9
	б	Аскоспор не образуют	10

9 а Аскоспоры круглые, гладкие, обычно 4 в аске, при созревании копулируют попарно непосредственно в аске, клетки крупные .... *Saccharomycodes*

б Аскоспоры круглые, поверхность покрыта шипами, аски обычно содержат одну спору и образуются после педогамной копуляции, клетки крупные, преимущественно лимоновидные ....*Nadsonia*

в Аскоспоры с асимметричным смещенным ободком (кепковидные), обычно 1-2 в аске, аски быстро разрушаются .... *Wickerhamia*

г Аскоспоры шляповидные или сферические, аски образуются без предшествующей конъюгации, клетки мелкие............ *Hanseniaspora*

10 а Сахара сбраживают ....*Kloeckera*

б Сахара не сбраживают .... *Schizoblastosporion*

11 а Почкующиеся клетки треугольные..................................... *Trigonopsis*

б Клетки не бывают треугольными... 12

12 а Культуры интенсивно образуют уксусную кислоту, что придает им характерный запах, клетки удлиненные с заостренным концом, культуры короткоживущие............................ 13

б Не образуют уксусную кислоту, культуры долгоживущие............... 14

13 а Аскоспоры образуют .... *Dekkera*

б Аскоспоры не образуют .... *Brettanomyces*

14 а Аскоспоры образуют 15

б Аскоспоры не образуют 38

15 а Дрожжеподобные грибы с обильным истинным мицелием, аски образуются в основном из клеток мицелия 16

б Истинного мицелия не образуют или он скудный, аски одиночные 22

16 а Гифы имеют септы с долипорами, которые заметны в световом микроскопе как черная точка, споры шляповидные ..... *Ambrosiozyma*

б Гифы с септами без долипор 17

17 а Аскоспоры игловидные, с хлыстовидными придатками, иногда с поперечной септой или вздутием в центральной части ....*Eremothecium*

б Аскоспоры не игловидные 18

18 а Аски образуются в результате слияния двух соседних клеток гиф (гаметангиогамия) 19

б Аски образуются без предварительной конъюгации клеток гиф 20

19 а Аски круглые, с одной стерильной клеткой на вершине, содержат 2-4 шляповидные аскоспоры .... *Stephanoascus*

б Аски круглые или обратнояйцевидные, содержат 1-4 аскоспоры полусферической формы .... *Zygoascus*

в Аски цилиндрические или игловидные, открываются отверстием на вершине; в аске множество овальных или бобовидных аскоспор .... *Dipodascopsis*

20 а Аски овальные собраны в мутовки на вершине прямых неветвящихся гиф, открываются отверстием на вершине, аскоспоры шляповидные, по 4 в аске .... *Cephaloascus*

б Аски содержат множество аскоспор, которые освобождаются через отверстие на вершине аска; новые аски образуются, прорастая через остатки старого; аскоспоры овальные, со смещенным ободком .... *Ascoidea*

в Аски одиночные, не собранные в пучки, на мицелии или свободные, содержат 1-4 аскоспоры 21

21 а Аски на мицелии или свободные, быстроразрушающиеся, содержат 1-4 круглые или шляповидные аскоспоры, интенсивно разжижают желатин .... *Yarrowia*

б Аски на мицелии, устойчивые, желатин не разжижают .... *Saccharomycopsis*

22 а Аски мешковидные, образуются после копуляции соседних почек (адельфогамия) или педогамно 23

б Аски иные 24

23 а Колонии слизистые, аскоспоры янтарного цвета, аски образуются из особых выростов клеток, быстро разрушаются .... *Zygozyma*

б Колонии слизистые, аскоспоры янтарного цвета, аски мешковидные, устойчивые .... *Lipomyces*

в Колонии не слизистые, аскоспоры бесцветные .... *Babjevia*

24 а Культуры растут только при температере 30-40°С, для роста необходимо присутствие аминокислот, витаминов группы В и высокое содержание CO_2, обитают в кишечнике кроликов........... *Cyniclomyces*

б Специфические условия роста не требуются 25

25 а Аски образуются из длинных трубчатых выростов клеток, содержат 4 шляповидных споры, сбраживают ксилозу .... *Pachysolen*

б Аски иные 26

26 а Аскоспоры игловидные, аски булавовидные или овальные, обычно образуются из хламидоспор, ... *Metschnikowia*

б Аскоспоры не игловидные 27

27 а Аскоспоры сферические, удлиненные или бобовидные, без ободка ... 28

в Аскоспоры сферические или овальные, с экваториальным ободком ... 37

г Аскоспоры шляповидные или сферические с субэкваториальным ободком .... *Pichia*

28 а Аски быстро разрушаются с высвобождением аскоспор 29

б Аски устойчивые 31

29 в Аскоспоры овальные, сферические, или бобовидные, обычно более одной в аске, оболочка зрелого аска разрушается полностью 30

а Аскоспоры овальные, по одной в аске, освобождаются через отверстие на вершине аска, после чего аски сморщиваются .... *Wickerhamiella*

б Аскоспоры булавовидные, 1-2 в аске .... *Clavispora*

30 а Активно сбраживают глюкозу, инозит не ассимилируют *Kluyveromyces*

б Глюкозу не сбраживают или сбраживают слабо, инозит ассимилируют ....*Sporopachydermia*

31 а Аскоспоры сферические 32

б Аскоспоры овальные, 1-2 в аске .... *Lodderomyces*

32 а Активно сбраживают глюкозу 33

б Глюкозу сбраживают слабо или не сбраживают .... *Debaryomyces*

33 а Клетки с длинными выростами (протуберанцами) .... *Torulaspora*

б Клетки без выростов 34

34 а Аски образуются непосредственно после конъюгации двух клеток, часто гантелевидные .... *Zygosaccharomyces*

б Аски образуются из диплоидных клеток, круглые или овальные 35

35 а Образуют хорошо выраженную пленку при при росте в жидкой среде .... *Issatchenkia*

б Пленку не образуют 36

36 а Аскоспоры бородавчатые, нитраты ассимилируют .... *Citeromyces*

б Аскоспоры бородавчатые, нитраты не ассимилируют .... *Arxiozyma*

в Аскоспоры гладкие, нитраты не ассимилируют .... *Saccharomyces*

37 а Ксилозу ассимилируют .... *Williopsis*

б Ксилозу не ассимилируют .... *Saturnispora*

38 а Колонии пигментированные, розовые, оранжевые или желтые, обычно образуют крахмалоподобные соединения .... анаморфы порядков Taphrinales и Protomycetales

б Колонии непигментированные, белые или кремовые 39

39 а Колонии слизистые, образуют крахмалоподобные соединения .... *Myxozyma*

б Колонии не слизистые, крахмалоподобные соединения не образуют 40

40 а Обильный мицелий с игловидными бластоконидиями........................ .... *Aciculoconidium*

б Псевдомицелий, терминальные клетки которого дихотомически ветвятся и трансформируются в апрессории .... *Botryozyma*

в Гифы, распадающиеся на короткие артроспоры и образующие бластоконидии на коротких зубчиках .... *Arxula*

г Бластоконидии на коротких зубчиках, образуются гроздьями на слегка вздутых концах гиф, часто имеют остевидные или хлыстовидные придатки .... *Blastobotrys*

д Бластоконидии образуются симподиально и при отделении оставляют заметные рубцы .... *Sympodiomyces*

е Отсутствие перечисленных выше признаков .... *Candida*

Ключ для определения родов базидиомицетовых дрожжей

1 а В культуре присутствуют мицелий (обычно дикариотический с пряжками), а также телиоспоры или базидии (телеоморфная стадия) 2

б Телиоспоры или базидии отсутствуют, мицелий, если присутствует, то без пряжек (анаморфная стадия) 13

2 а Телиоспоры присутствуют 3

б Телиоспоры отсутствуют 8

3 а Крахмалоподобные соединения образуют 4

б Крахмалоподобные соединения не образуют 6

4 а Конидии (почки) образуются на длинных выростах (стеригмах) .... *Sterigmatosporidium*

б Конидии (почки) сидячие или на коротких зубчиках 5

5 а Глюкозу не сбраживают, мицелий обычно с пряжками, колонии пигментированные, оранжевые, розово-красные ..... *Cystofilobasidium*

б Обычно сбраживают глюкозу, мицелий без пряжек, колонии белые .. .. *Mrakia*

6 а Баллистоспоры образуют .... *Sporidiobolus*

б Баллистоспоры не образуют 7

7 а Колонии пигментированные, красные, розовые или оранжевые .... *Rhodosporidium*

б Колонии белые .... *Leucosporidium*

8 а Баллистоспоры образуют 9

б Баллистоспоры не образуют 10

9 а Базидии многоклеточные, обычно продольно септированные, образуют баллистоспоры .... *Bulleromyces*

б Базидии (спорогенные клетки) одноклеточные, с утолщенной оболочкой, прорастают билатерально симметричными баллистоконидиями .... *Itersonilia*

10 а Крахмалоподобные соединения не образуют .... *Erythrobasidium*

б Крахмалоподобные соединения образуют 11

11 а Базидии с цепочками базидиоспор, образующихся базипетально .... *Filobasidiella*

б Базидиоспоры одиночные, не образуют цепочек 12

12 а Инозит ассимилируют .... *Filobasidium*

б Инозит не ассимилируют .... *Xanthophyllomyces*

13 а Конидии (почки) образуются на длинных выростах (стеригмах) ... 14

б Конидии (почки) сидячие или на коротких зубчиках 18

14 а Инозит ассимилируют, ксилоза в гидролизатах клеток присутствует 15

б Инозит не ассимилируют, ксилоза в гидролизатах клеток отсутствует 17

15 а Баллистоспоры образуют .... *Kockovaella*

б Баллистоспоры не образуют 16

16 а Септа, отделяющая почку и материнскую клетку, закладывается на дистальном конце стеригмы .... *Fellomyces*

б Септа в средней части стеригмы .... *Tsuchiyaea*

17 а Септа, отделяющая почку и материнскую клетку, закладывается на дистальном конце стеригмы .... *Kurtzmanomyces*

б Септа в средней части стеригмы .... *Sterigmatomyces*

18 а Баллистоспоры образуют 19

б Баллистоспоры не образуют 22

19 а Баллистоспоры центрально-симметричные .... *Bullera*

б Баллистоспоры билатерально-симметричные 20

20 а Баллистоспоры крупные, до 10-15 мкм в диаметре, ксилоза в гидролизатах клеток присутствует .... *Udeniomyces*

б Баллистоспоры мелкие, ксилоза в гидролизатах клеток отсутствует 21

21 а Колонии красные или оранжево-красные, кофермент Q-10 .... *Sporobolomyces*

б Колонии белые или бледно-окрашенные, кофермент Q-9 .... *Bensingtonia*

22 а Почкование монополярное на широком основании, отделившаяся почка оставляет на материнской клетке шрам в виде воротничка, из которого появляются последующие почки .... *Malassezia*

б Почкование иное 23

23 а Образуют септированный мицелий, распадающийся на артроспоры, которые образуют характерный «зигзаг» .... *Trichosporon*

б Мицелий, если образуется, не распадается на артроспоры 24

24 а Глюкозу сбраживают, колонии красно-оранжевые .... *Phaffia*

б Глюкозу не сбраживают 25

25 а Инозит ассимилируют, крахмалоподобные соединения обычно образуют, ксилоза в гидролизатах клеток присутствует...................... ....*Cryptococcus* и анаморфы *Tremella* и близких родов

б Инозит не ассимилируют, крахмалоподобные соединения не образуют, ксилоза в гидролизатах клеток отсутствуют .... *Rhodotorula* и анаморфы грибов из клада *Microbotryum*

Коллекции дрожжей

Вновь описываемые виды должны типифицироваться штаммами, которые помещают в крупные коллекции, где они поддерживаются в живом состоянии. Это делает их доступными для научной общественности. Кроме хранилищ таких штаммов коллекции выполняют различные функции: научные, учебные, производственные. Они проводят патентование практически ценных штаммов, осуществляют обмен и выдачу культур для разных целей, проводят таксономические исследования, составляют периодически публикуемые каталоги. Коллекции дрожжей различаются как по своему объему, так и по направленности. Есть очень крупные, хорошо известные в научном мире коллекции, где проводятся широкие исследования по систематике дрожжей, разрабатываются спосо-

бы наилучшего хранения штаммов. Есть и небольшие, но очень ценные коллекции, где собраны штаммы с конкретной целью, служащие для выполнения специальных исследований.

Крупнейшая коллекция дрожжей - CBS (Centraalbureau voor Schimmelcultures). Эта коллекция была создана в 1904 г. по решению 11-го международного Ботанического Конгресса в Вене. Она поддерживается Королевской Нидерландской Академией Искусств и Наук и до 2000 г. располагалась на родине Левенгука в г. Дельфте. В настоящее время коллекция CBS находится в г.Утрехте и является мировым центром по изучению систематики дрожжей. Главным образом на базе этой коллекции была создана серия определителей дрожжей, содержащих описания всех известных видов и диагностические ключи для их идентификации.

Среди других крупных коллекций дрожжей ВКМ (Всероссийская коллекция микроорганизмов) и ВКПМ (Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов) в России, ATCC (American Type Culture Collection) в США, IFO (Institute of Fermentation in Osaka) в Японии, CCY (Culture Collection of Yeasts) в Словакии, NCYC (National Collection of Yeast Cultures of the United Kingdom) в Англии. Существует также ряд крупных специализированных коллекций дрожжей, например, генетически модифицированных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, штаммов, используемых в виноделии и других биотехнологических процессах.

Основная проблема, с которой сталкиваются работники микробиологических коллекций - необходимость длительного поддержания чистых культур в жизнеспособном состоянии. Для хранения дрожжевых культур используются разные методы, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки.

Наиболее доступный и широко применяемый метод хранения - поддержание культур путем их периодических пересевов, обычно в пробирках со скошенным агаром. Сроки пересевов определяются скоростью высыхания среды и зависят от температуры и влажности помещения. Промежутки между пересевами можно увеличить за счет более плотного закупоривания пробирок и снижения температуры хранения. Хранение в холодильной камере при температуре около 5°С дает возможность увеличить сроки пересевов до 2-3 лет. Для предотвращения высыхания культур используют заливку культур минеральным маслом. Этот способ

позволяет сохранять культуры большинства видов дрожжей без пересевов в течение 10 и более лет.

Другой способ, используемый для длительного хранения дрожжевых культур - лиофилизация, то есть высушивание под вакуумом из замороженного состояния. Лиофилизированные культуры хранят в запаянных стеклянных ампулах при комнатной температуре или в холодильнике. Такие культуры могут сохраняться в жизнеспособном состоянии в течение нескольких десятилетий. Недостатком этого способа является невозможность визуального контроля за жизнеспособностью культуры. Кроме того, не все виды дрожжей выдерживают процесс лиофилизации, а при длительном хранении лиофилизированных культур могут происходит существенные изменения в их метаболизме.

В последнее время все шире применяется еще один способ длительного хранения культур микроорганизмов - замораживание в жидком азоте. Замороженные в ампулах культуры хранят в специальных контейнерах-рефрижераторах с жидким азотом при температуре -196°С. Такой способ позволяет сохранять жизнеспособные культуры дрожжей в течение практически неограниченного времени.

ЛИТЕРАТУРА

Бабьева И.П. Дрожжи в биогеоценозах разных природных зон. В кн.: «Почвенные организмы как компоненты биогеоценоза», М.: Наука, 1984

Бабьева И.П. Дрожжи. В кн.: «Мир растений», М.: Просвещение, 1990, т. 2

Бабьева И.П., Голубев В.И. Методы выделения и идентификации дрожжей. М.: Пищевая промышленность, 1979

Бабьева И.П., Горин С.Е. Почвенные дрожжи. М.: Изд-во МГУ, 1987

Берри Д. Биология дрожжей. М.: Мир, 1985

Квасников Е.И., Щелокова И.Ф. Дрожжи. Биология. Пути использования. Киев: Наукова Думка, 1991

Кудрявцев В.И. Систематика дрожжей. М.: Изд-во АН СССР, 1954

Новое с систематике и номенклатуре грибов. Ред. Ю.Т.Дьяков, Ю.В.Сергеев. М.: Национальная академия микологии. Медицина для всех, 2003, 494 с.

Barnett J.A., Payne R.W., Yarrow D. A guide to identifying and classifying yeasts. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1991

Biology and activity of yeasts. Eds. F.A.Skinner, S.M.Passmore, R.R.Davenport. London et al., 1980, 310 p.

The expanding realm of yeast-like fungi. Eds. G.S. de Hoog, M.Th.Smith, A.C.M.Weijman. Amsterdam: Elsevier Science Publ., 1987, 510 p.

The yeasts. A taxononic study. Second ed. Ed. J.Lodder. Amsterdam: North-Holl. Publ. Co., 1970, 1386 p.

The yeasts. A taxonomic study. Ed. N.J.W.Kreger-van Rij. Third edition. Amsterdam: Elsevier, 1984, 1082 p.

The yeasts. A taxonomic study. Eds. C.P.Kurtzman, J.W.Fell. Fourth revised and enlarged edition. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1998, 1055 p.

Phaff H.J., Miller M.W., Mrak E.M. The life of yeasts. 2-d edition. Cambridge: Harvard Univ. Press, 1978.

The Yeasts. Eds. A.H.Rose, J.S.Harrison. Biology of yeasts. London et al.,: Acad. Press, vol. 1-3, 1987.

НЕКОТОРЫЕ ИНТЕРНЕТ САЙТЫ, ПОЛЕЗНЫЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИИ ДРОЖЖЕЙ

Сайты крупнейших коллекций дрожжей:

http://www.vkm.ru - Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ)

http://fbsd.genetika.ru/vkpm/index.htm - Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов (ВКПМ)

http://www.cbs.knaw.nl - коллекция грибных культур, Голландия (Centraalbureau voor Schimmelcultures -CBS)

http://www.atcc.org/SearchCatalogs/Fungi_Yeasts.cfm - каталог дрожжей Американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection - ATCC)

http://www.ifr.bbsrc.ac.uk/ncyc/ - Национальная коллекция дрожжевых культур Великобритании (National Collection of Yeast Cultures of the United Kingdom - NCYC)

http://www.inra.fr/clib/english/index.htm - Коллекция дрожжей, используемых в биотехнологии, Франция (Collection of Yeasts of Biotechnological Interest)

Сайты некоторых научных журналов, наиболее часто публикующих статьи по биологии дрожжей:

http://www.elsevier.com/locate/femsyr - FEMS Yeast Research

http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/jtoc?Type=DD&ID=89011179 - Yeast

http://www.kluweronline.com/issn/0003-6072 - Antonie van Leeuwenhoek

http://aem.asm.org/ - Applied and Environmental Microbiology

http://www.nrc.ca/cgi-bin/cisti/journals/rp/rp2_desc_e?cjm - Canadian Journal of Microbiology

Персональные страницы крупнейших зимологов

http://www.uwo.ca/biology/Faculty/Lachance/index.htm - М.А.Лачанс (M.A.Lachance, The University of Western Ontario, Canada).

http://biology.syr.edu/Starmer/ - В.Т.Стармер (W.T.Starmer, Department of Biology, Syracuse University, USA).

http://www.rsmas.miami.edu/divs/mbf/people/jfell.html - Дж. Фелл (J.Fell, Department of Marine Biology and Fisheries, University of Miami)

Прочее

http://www.crem.fct.unl.pt/dimorphic_basidiomycetes/ - Биология диморфных базидиомицетов (статьи, новости, библиография).

http://www.rusmedserv.com/mycology/html/kandidoz3.htm - Этиология, патогенез и лабораторная диагностика кандидоза.

http://www.doctorfungus.org - Патогенные грибы и дрожжи.

http://genome-www.stanford.edu/saccharomyces/ - База данных по молекулярной биологии и генетике Saccharomyces cerevisiae.

ftp://ncbi.nlm.nih.gov/repository/yeast/yeaster.lst - Список email-адресов специалистов, занимающихся изучением биологии дрожжей

ИСТОЧНИКИ ЗАИМСТВОВАННЫХ ИЛЛЮСТРАЦИЙ

Источники фотографий:

Надсон Г.А. Избранные труды. Т.1. М.: Наука, 1967.

Biology and Activity of Yeasts. F.A.Skinner, S.M.Passmore, R.R.Davenport (Eds.). London et al., 1980.

Byzov B.A., Vu Nguyen Thanh, Babjeva I.P. Interrelationships between yeasts and soil diplopods. Soil Biol. Biochem., 1993, vol. 25, № 8, p. 1119-1126.

The expanding realm of yeast-like fungi. Eds. G.S. de Hoog, M.Th.Smith, A.C.M.Weijman. Amsterdam: Elsevier Science Publ., 1987

http://timm.main.teikyo-u.ac.jp/pfdb/species/

http://www.cbs.knaw.nl

http://www.cu.lu/labext/rcms/cppe/biere/hist.html

http://www.doctorfungus.org

http://www.medicinfo.hu

http://www.mykoweb.com

http://www.sciencephoto.com

Авторы штриховых рисунков - И.А.Максимова, И.П.Бабьева

УКАЗАТЕЛЬ ТЕРМИНОВ

А

автохтонные почвенные дрожжи 92, 100, 168
адельфогамия 42, 47, 49
азолы 72
азотфиксация 114
активность воды 69–70
актидион. *См.* циклогексимид
алкалофильные дрожжи 91
алкогольоксидаза 133
аллохтонные почвенные дрожжи 92
амебы 96, 114
амилазы 133
аммоний 65
амфотерицин 72, 117, 119
анаморфы 147, 187, 194, 195, 209–210
  систематика 147
антибиотики 24, 71, 115, 117
  полиеновые 72
антимикотики 117, 119
апикулятные клетки 33, 181, 183
апрессории 190, 206
артроконидии. *См.* артроспоры
артроспоры 28, 36, 153, 158, 159, 163, 189, 215
аски
  азиготические 47
  зиготические 47
  из хламидоспор 47, 52
  мешковидные 47, 94, 166, 168
  на мицелии 47, 150, 157, 158
  образование 45
  после педогамной копуляции 47
  типы 47
аскокарп 150
аскомицетовые дрожжи 45–52
аскоспоры
  бобовидные 175
  игловидные 164, 170
  кепковидные 183
  с экваториальным ободком 173, 179
  строение 46
  форма 46, 150
  число в аске 47
  шляповидные 161, 177, 184, 185, 186
атопический дерматит 121
аффинитет 17, 134
ацетоин 65

Б

базидии 118, 205, 206, 209
базидиомицетовые дрожжи 52–56
баллистоконидии. *См.* баллистоспоры
баллистоспоры 37, 88, 199, 203, 206, 210
белково-витаминные концентраты 128–130
белок одноклеточных 128–130
беспозвоночные 78–86, 82, 92, 103, 111
  кишечный тракт 82, 84
  переносчики дрожжей 86, 92
  питание дрожжами 96, 114
  сапрофаги 84
  фитофаги 85, 103
  экскременты 84
бета-кетоадипинат 64
бета-кетоадипиновый путь 64
бета-окисление 62
биотехнология 128–129
бластоспоры 36
брожение 9, 22, 58–61, 76, 122
  верховое 126
  низовое 126
  пентозы 61
  субстраты 59–61
буровая мука 81, 85, 103, 111, 157

В

вакуоли 16, 21, 24
вид у дрожжей. *См.* концепция вида
виноград 75, 77, 85, 124, 181
виноделие 77, 85, 122, 124–125, 178
  вторичное 125
  традиционное 124
виски 7, 122
витамины 6, 124, 133

волютин 16, 20
вторичные продукты 64
высокогорья 110
высшие спирты 64

Г

галактозидаза 133
галотолерантные дрожжи 70
гапло-диплоидные дрожжи 51
гаплоидные дрожжи 48
геносистематика 10, 138
гетеробазидиомицеты 52, 76, 134
гетероталличные дрожжи 43, 52, 137, 147
гигантские колонии 26, 139
глеевые горизонты 91
гликоген 11, 20, 22, 23
гликолиз 20, 59
глиоксилатный цикл 62
глицерин 59, 70, 132
глюкан 17, 19, 132, 140
глюкуроновая кислота 142
голобазидии 56
головневые грибы 6, 53, 106, 200, 201
гологамия 42, 49
голосумчатые грибы 150
гомоталличные дрожжи 43, 51, 137

Д

деление 150, 153
дерматит
  атопический 121
  себорейный 121
диагноз вида 145, 146
диазониевый синий 149
диацетил 65
дикие дрожжи 86
диктиосомы 16
диморфизм 36, 92
диморфные базидиомицеты 194
диплоидные дрожжи 50
ДНК-азы 64, 149
долипоры 39, 145
дрожалковые грибы 54
дрозофилы 80
дыхание 61–64

Ж

жизненные формы дрожжей 76, 111–113, 135. *См. также* экоморфы дрожжей
жизненный цикл 42

З

закваски 122
зимостерол 14
зональность 100–114

И

идентификация дрожжей 216
изолимонная кислота 132
инвертаза 72, 133
ингибиторы роста 71
инозит 194
  ассимиляция 194, 195
инсулин 6, 124
интерфаза 40
интерферон 6
интерфертильность 137
инулин 130
итраконазол 117

К

кактусы 80
кандидоз 72, 115–117
капсула 18–20, 22, 88, 103, 105, 109, 113, 211
кариогамия 42, 49, 52, 119
кариокинез 40, 41
каротиноиды 6, 28, 88, 103, 104, 149
катаболизм 58–64
  анаэробный 58–61
  ароматических соединений 63
  аэробный 61–64
  белков 64
  бета-кетоадипиновый путь 64
  брожение 58–61
  гексоз 61
  гетероциклических соединений 63
  жирных кислот 62
  крахмала 62
  одноуглеродных соединений 63
  пентоз 62

полисахаридов 62
углеводов 61–62
углеводородов 62
катаболитная репрессия 58
кивсяки 82
киллерный эффект 72–74
кислотность среды 70
клеточная стенка 11, 17, 22, 139, 140–141, 149, 195
моносахаридный состав 140
клеточный цикл 40
коллекции дрожжей 41, 223–224
комплекс Гольджи 15, 16, 21, 24, 74
концепция вида 136–138
биологическая 137
монофилетическая 138
номиналистическая 136
типологическая 136
копуляция гаметангиев 159, 161, 163, 167
кормовые дрожжи 128–130
короеды 81
кофермент Q 142–143, 149
коэволюционные ассоциации 85
крахмал 125, 127, 130
образование 195, 196
крахмалсодержащие отходы 130
криптококкоз 6, 56, 72, 117–120
кристы 13, 22, 23
круговорот дрожжей 75
ксеротолерантные дрожжи 70, 132
ксиланазы 133
ксилит 70, 132
ксилоза 132, 141
в клеточной стенке 142, 196
ксилофаги 81, 85, 158
ксилулозо-монофосфатный цикл 60, 63

Л

лактоза 130
лесная полоса 102
лизосомы 16
лимитирующие факторы 68–74
липазы 162
липиды 20–21, 22, 94, 113, 124
липомицеты 107
адаптации 94
внеклеточные полисахариды 97
методы учета 93
распространение 95–97
функции в почвах 96–97

М

макроморфология 26
маннан 17, 19, 141
манноза 195
мед 181
медвяная роса 84, 85
мейоз 42, 45, 49, 53, 119
мейозная почка 49
меланины 28, 104, 106, 151
мембрана цитоплазматическая 14, 21
метанол 23, 63, 130
метилотрофные дрожжи 23, 63
микопаразиты 163
микофаги 85
микроморфология 28–39
микропора 144
митоз 25, 40, 41
митохондрии 11, 13–14, 21, 22, 24, 61
мицелий
дикариотический 39, 44, 52, 55, 118, 197, 198, 199, 200, 206
истинный 39, 45
ложный. *См.* псевдомицелий
мицетомы 81
мокрицы 82
молочная сыворотка 130
молочница 116
мочевина
ассимиляция 66
муст 124

Н

насекомые 78, 79, 80, 81, 157, 158
дереворазрушающие 81
кишечный тракт 82
опылители 78
нектар 78, 84, 85, 181
нефть 129, 132
нистатин 72
нитраты
ассимиляция 66

нормальная микрофлора человека 115
нуклеолемма 12

О

олигонитрофилия 113
определители 9, 134, 136, 148, 150, 217
опылители 78
органические кислоты 131, 132
органогенные горизонты 91
органолептические соединения 64, 125
осмопротекторы 132

П

пальмитиновая кислота 149
парентосомы 39, 145
педобионты 94, 113
педогамия 42, 49
пекарские дрожжи 127, 128
пектиназы 133
пентозофосфатный цикл 20, 60, 61, 62
пентозы 129, 131
  сбраживание 131
переаминирование 66
пероксисомы 23, 62
пестрый лишай 120
пивоварение 7, 122, 125–127
пиноцитоз 23
питириаз 121
плазмиды 73
плазмогамия 42, 49, 52, 55
плазмодесмы 144
плазмолеммосомы 23
плеоморфизм 36, 136
плодовые тела 6, 55, 150
подстилка 101, 103, 106, 111
полиеновые антибиотики. *См.* антибиотики: полиеновые
полиолы 6, 70, 132
полисахариды 6, 124, 130, 132
  внеклеточные 139
половое размножение 42–56
помбе 123
почвенные дрожжи
  автохтонные 92, 168
  аллохтонные 92
почвы 86–99, 91–98
  болотные 95, 104
  бурые лесные 91, 104
  горные 95
  зоогенные 102
  каштановые 91, 95
  лугово-степные 95
  надмерзлотные горизонты 91
  пахотные 95
  подзолистые 91, 95, 104
  примитивные высокогорные 95
  серо-бурые пустынные 91, 107
  сероземы 91
  солончаки 91
  такыры 91
  тундровые глеевые 91, 101
  тундровых пятен 91
  условия развития дрожжей 91
  черноземы 91, 95, 106
  численность дрожжей 91
почкование 21, 28
  голобластическое 30, 143, 149
  многостороннее 31, 34
  множественное 32, 172
  на выростах 33, 211, 212, 214
  на широком основании 33, 120, 150, 181, 193
  полярное 31, 32, 34, 120, 150, 181, 193
  симподиальное 33, 193
  энтеробластическое 30, 120, 143, 149
почкующееся деление. *См.* почкование: на широком основании
прессованные дрожжи 128
признаки аффинитета 134, 148–149
признаки таксономические 138–145
  биохимические 139
  генетические 139
  макроморфологические 139
  микроморфологические 139
  морфологические 138
  физиологические 139
  цитологические 139
  экологические 140
природные зоны
  лесная полоса 102–105
  пустыня 107

степь 105–106
тундра 100–102
промицелий 53, 54, 197, 198, 199, 207, 208
пространственно-сукцессионный ряд 98
протеазы 64, 162
пряжки 52, 197, 198, 199, 200
псевдомицелий 35, 45, 148, 191
примитивный 35
сложный 35
психротолерантные дрожжи 69
психрофильные дрожжи 69, 110
психрофобные дрожжи 69
пуллулан 132
пульке 123
пульхерримин 28
пустыня 107
пчелы 78

Р

растения 86–99
растительные остатки 89–90, 98, 101
видовой состав дрожжей 90
численность дрожжей 90
ретикулум 11, 15, 21
ржавчинные грибы 6, 196
рибофлавин 133

С

сакэ 123
сапробионты 90, 92, 113
сапрофаги 82
сахаробионты 112
себоррейный дерматит 121
секвенирование 135, 149
септовые поры 143, 149, 195
сивушные масла 64
склерофиты 88
сокотечения 79, 85, 103, 157, 171
сукцессии 80
солод 125
соматогамия 42
сорняки брожения 181
споридии 53, 54, 197, 198, 199, 207, 208
стандартное описание вида 145
степь 105–106
стрептомицин 24
суккуленты 88
сукцессии 98, 111
сусло пивное 126
сухие дрожжи 128

Т

таксономические признаки. *См.* признаки таксономические
такыры 91
текила 123
телеоморфа 148, 194
телиоспоры 39, 53, 54, 197, 198, 199, 207, 208
тельца Воронина 144
термитники 95
термотолерантные дрожжи 68
терпены 81
типы спаривания 42, 43–44, 52, 147
топинамбур 130
торф 105
трегалоза 20, 59
треугольные клетки 194
тундра 100
туникамицин 72

У

убихинон 142
углеводороды 23, 60, 129, 132
ультраструктура септ 143
уреаза 67, 149
тест на наличие 67
уроновые кислоты 19
усачи 81

Ф

фагосомы 24
фенилаланинаммиаклиаза 133
феноловый красный 67
ферменты 6, 124, 130, 131, 132
филогенетическая систематика 134
фитобионты 88, 92, 113
фитопатогенные грибы 151
фитофаги 84, 85, 103
флоккуляция 127

флуконазол 72, 117, 119
фолликулит 121
форезия 86
фосфатидилсерин 14
фосфатидилхолин 14
фосфатидилэтаноламин 14
фосфоманнаны 19
фукоза 142, 196
фумаровая кислота 132

Х

хитин 17, 22, 141
хламидоспоры 37, 38, 45, 52, 94, 105, 209
хлебопечение 122, 127–128
хлорамфеникол 24, 72
хранение культур 224
хроматин 12
хромосомы 12, 25

Ц

цветки 78
целлюлазы 62, 130
центриоли 13
цикл трикарбоновых кислот 13, 60, 62, 72
циклогексимид 25, 71, 73
цитокинез 40, 41
цитоплазма 20

Ч

черные дрожжи 28, 92, 106, 151, 186

Ш

шампанские вина 125
шрамы почкования 22, 29, 32, 51

Э

экзоспориум 172
экоморфы дрожжей 76
  педобионты 94, 113
  сапробионты 90, 92, 113
  сахаробионты 112
  фитобионты 88, 92, 113
экссудаты растений 88
эндоспоры 36, 37
эндофиты 88
эпибазидии 56
эпифитные дрожжи 78, 87–89, 92, 100, 103, 106, 107
  адаптивные особенности 88
  динамика 89
  численность 87
эргостерол 14
этанол
  производство 131
эфирные масла 81
эффект Кребтри 58, 128
эффект Пастера 58, 128

Я

яблочная кислота 124, 132
ядерные поры 12, 25
ядро 11, 12–13, 21, 24, 42
ядрышко 12

УКАЗАТЕЛЬ ЛАТИНСКИХ НАЗВАНИЙ

Aciculoconidium 188, 221
  aculeatum 188
Ambrosiozyma 39, 81, 82, 144, 156, 184, 218
  monospora 184
Anthomyces
  reukaufii 78
Archiascomycetes 151–155, 151–215
Arthroascus 45, 47, 185
  javanensis 79, 186
Arxiozyma 170, 220
  telluris 58, 61, 68, 171
Arxula 28, 102, 187, 188, 221
  adeninivorans 63
Ascoidea 150, 156, 219
Ascoideaceae 156
Ashbya 164
Aspergillus 125
  niger 132
Aureobasidium 109, 186
  pullulans 19, 92, 106, 132

Babjevia 165, 219
  anomala 95, 166
Bensingtonia 109, 143, 210, 223
Blastobotrys 102, 135, 161, 187, 189, 221
Botryomyces 186
Botryozyma 189, 221
Brettanomyces 124, 174, 187, 190, 218
Bullera 37, 69, 106, 109, 142, 143, 203, 204, 210, 215, 222
Bulleromyces 203, 204, 222
  albus 204

Candida 31, 36, 53, 62, 72, 73, 75, 78, 80, 81, 82, 83, 84, 102, 113, 115, 141, 143, 147, 148, 149, 156, 161, 187, 190, 213, 221
  albicans 25, 38, 115–117
  aurita 105
  boidinii 63
  catenulata 132
  famata 148
  frigida 148
  fusiformata 201
  gelida 148
  glabrata 115
  guillermondii 115
  guilliermondii 62, 115, 129
  hydrocarbofumarica 132
  intermedia 62
  krusei 115
  lipolytica 62, 129
  lusitaniae 115, 117
  maltosa 129
  methylica 63
  nivalis 148
  paludigena 105
  parapsilosis 115, 117
  pulcherrima 148
  robusta 148
  rugosa 115
  shehatae 61, 131
  tenuis 192
  tropicalis 62, 68, 115, 117
  tsukubaensis 201
  utilis 12
  диагноз рода 147
Cephaloascaceae 157
Cephaloascus 150, 157, 219
Citeromyces 171, 220
  matritensis 171
Clavispora 169, 220
Coccidiascus 165, 217
Coccidioides
  immitis 36
Cryptococcus 19, 26, 38, 58, 69, 73, 75, 78, 98, 113, 132, 142, 143, 149, 210, 211, 223
  aerius 98, 107, 110, 113
  albidus 87, 101, 103, 104, 105, 106, 108
  diffluens 100, 103, 108, 109, 110
  dimennae 110
  gilvescens 100, 101, 102, 103, 110
  humicolus 113
  laurentii 87, 100, 101, 103, 104, 106, 109, 133

neoformans 33, 56, 117, 117–120, 205
var. gattii 118
var. neoformans 118
серотипы 118
podzolicus 100, 104, 106, 113
terreus 98, 113
terricola 21, 98, 104, 113
uniguttulatus 56
серотипы 118
Cyniclomyces 171, 219
guttulatus 69, 70, 172
Cystofilobasidiales 203
Cystofilobasidium 28, 203, 207, 210, 211, 221
capitatum 54, 90, 104, 106, 110, 113

Debaryomyces 31, 46, 47, 58, 72, 73, 78, 83, 84, 102, 104, 113, 172, 220
hansenii 49, 63, 64, 70, 103, 148, 172
vanrijiae 172
Dekkera 156, 173, 187, 190, 218
Deuteromycetes 187
Dipodascaceae 144, 158
Dipodascopsis 165, 166, 219
Dipodascus 150, 158, 191, 217

Endomyces 28, 135, 163, 164, 217
Endomycetaceae 163
Endomycetales 150
Endomycopsella 185
Endomycopsis 185
Eremascus 150
Eremotheciaceae 164
Eremothecium 46, 164, 218
Erythrobasidium 199, 210, 222
hasegawianum 199
Euascomycetes 150, 151, 186–187
Exophiala 186

Fellomyces 33, 143, 203, 211, 212, 222
penicillatus 211
Fibulobasidium 203
Filobasidiaceae 200
Filobasidiales 203, 211
Filobasidiella 203, 204, 211, 222
neoformans 56, 118, 144, 205
var. bacillispora 118
var. neoformans 118
Filobasidium 142, 203, 205, 210, 211, 222
uniguttulatum 56

Galactomyces 28, 159, 191, 217
Geotrichum 158, 159, 164, 191, 217
Guilliermondella 185

Hanseniaspora 33, 47, 71, 78, 102, 104, 124, 150, 181, 187, 192, 218
uvarum 50, 77
Hansenula 177
Helicogonium 164
Hemiascomycetes 150, 151, 155–185
Holleya 164
Holtermannia 203
Hormonema 186
Hymenomycetes 194, 202–209, 210
Hyphopichia
burtonii 133

Issatchenkia 174, 220
Itersonilia 206, 222

Kloeckera 71, 182, 187, 191, 218
apiculata 77
Kluyveromyces 46, 47, 71, 72, 73, 113, 130, 131, 174
fragilis 59
lactis 73
marxianus 133, 175
polysporus 175
thermotolerans 68
Kockovaella 203, 212, 222
Kurtzmanomyces 33, 143, 212, 222

Lalaria 155
Leucosporidium 39, 44, 53, 109, 196, 201, 213, 222
scottii 54, 69, 101
Lipomyces 19, 27, 38, 45, 46, 47, 48, 58, 92–98, 102, 104, 132, 143, 156, 167, 193, 219
anomalus 95, 166
kononenkoae 95, 96
lipofer 95, 96, 104
starkeyi 21, 95, 96, 104
tetrasporus 49, 95, 96, 107, 168
адаптации 94

Lipomycetaceae 144, 165
Lodderomyces 46, 47, 175, 220
elongisporus 176

Malassezia 120–121, 200, 202, 223
Malasseziales 200
Mastigomyces 102, 192
philippovii 192
Metschnikowia 38, 45, 46, 78, 102, 170, 220
lunata 170
pulcherrima 28, 39, 51, 52, 84, 101, 103, 106, 148, 170
reukaufii 78, 84, 101, 106, 170
Metschnikowiaceae 169
Microbothrium 223
Microbotryum 201, 223
Mrakia 39, 109, 203, 208, 221
frigida 54, 69, 101
Mucor 125
Myriogonium 164
Myxozyma 192, 221
kluyveri 193

Nadsonia 27, 33, 46, 47, 150, 156, 182, 218
elongata 49, 79
Nematospora 46, 164

Pachyiulus
flavipes 83
Pachysolen 176, 219
tannophilus 61, 131, 132, 176
Phaeococcomyces 109, 186
Phaeotheca 186
Phaffia 38, 142, 223
rhodozyma 79, 209
Phialoascus 164
Phialophora 186
Phyllogloea 203
Pichia 19, 31, 36, 46, 47, 58, 72, 73, 78, 79, 80, 81, 82, 102, 103, 104, 113, 156, 177, 185, 220
amethionina 80
anomala 130
cactophila 80
membranaefaciens 132
opuntiae 80
pastoris 63
polymorpha 63, 130
stipitis 61, 131
Pityrosporum 120
Pneumocystis 153
Protomyces 102, 151, 153, 155, 156
Protomycetales 153, 221
Pseudozyma 200, 202, 212
prolifica 201

Rhinocladiella 186
Rhodosporidium 39, 44, 109, 142, 197, 200, 201, 210, 213, 222
babjeviae 54
dacryoidum 197
toruloides 53, 197
Rhodotorula 19, 26, 28, 58, 75, 76, 78, 113, 132, 142, 210, 213, 223
fujisanensis 54, 103
glutinis 52, 53, 88, 101, 103, 104, 133, 134
hasegawae 199
minuta 101
mucilaginosa 103, 104, 105

Saccharomyces 7, 9, 10, 11, 14, 17, 31, 45, 46, 47, 124, 149, 178, 220
bayanus 123
carlsbergensis 126
cerevisiae 11, 12, 14, 17, 40, 41, 43, 44, 45, 51, 58, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 77, 112, 123, 126, 127, 131, 133, 140, 141, 148, 178
дикие популяции 123
cheresiensis 123
chevalieri 123
ellipsoides 123
oviformis 123
paradoxus 123
pastorianus 123
vini 123
межвидовые гибриды 123
расы 123
Saccharomycetaceae 170
Saccharomycetales 156
Saccharomycodaceae 181
Saccharomycodes 33, 45, 150, 182, 218
ludwigii 50, 183

Saccharomycopsidaceae 184
Saccharomycopsis 45, 82, 141, 185, 219
  fibuliger 61, 130, 133
  javanensis 186
Saitoella 153
Sarcinomyces 186
Saturnispora 178, 220
Schizoblastosporion 33, 102, 193, 218
  starkeyi-henricii 105, 193
Schizosaccharomyces 45, 123, 141, 143, 150, 151, 153, 156, 217
  octosporus 153
  pombe 40, 49, 58, 70, 153
Schwanniomyces 46, 173
  occidentalis 61, 130, 133
Sirobasidium 203
Sirotrema 203
Sporidiobolus 37, 44, 53, 113, 198, 201, 210, 214, 222
Sporobolomyces 19, 27, 28, 37, 58, 69, 113, 142, 143, 213, 214, 223
  antarcticus 201
  roseus 87, 88, 101, 103, 104, 105, 106
Sporopachydermia 160, 220
Stephanoascus 45, 47, 161, 188, 213, 219
  flocculosus 201
  rugulosus 201
Sterigmatomyces 33, 143, 213, 214, 215, 222
  aphidis 201
  halophilus 214
Sterigmatosporidium 203, 208, 221
Sympodiomyces 187, 193, 221
  parvus 193

Taphrina 102, 153, 154, 156
  deformans 154
  populina 154
Taphrinales 151, 153, 221
Tausonia
  pamirica 110
Tilletia 202
Tilletiales 201
Tilletiopsis 135, 202
Torula 75
Torulaspora 83, 113, 179, 220
Torulopsis 75, 148
Tremella 55, 203, 210, 223
Tremellales 54, 203, 211
Trichoderma 62
Trichomonascus 164
Trichosporon 28, 37, 106, 113, 142, 189, 203, 214, 223
  oryzae 201
  pullulans 62, 63, 87, 90, 101, 104, 130
Trichosporonales 203
Trichosporonoides 135
Trigonopsis 194, 218
  variabilis 133, 194
Trimorphomyces 203
Tsuchiyaea 203, 215, 222
  wingfieldii 215

Udeniomyces 109, 143, 203, 215, 223
  puniceus 54
Unicellomycetales 134
Uredinales 196
Urediniomycetes 194, 196–200, 201, 210
Ustilaginales 201
Ustilaginomycetes 194, 200–202, 210
Ustilago 201
  maydis 202

Waltomyces
  lipofer 95
Wickerhamia 46, 183, 218
Wickerhamiella 162, 220
Williopsis 46, 47, 83, 179, 220
  saturnus 51
Wingea 46

Xanthophyllomyces 203, 209, 222
  dendrorhous 209

Yarrowia 162, 219
  lipolytica 130, 132, 133, 144, 162

Zygoascus 162, 219
Zygosaccharomyces 45, 47, 180, 220
  bailii 70, 132
  rouxii 70, 132
Zygozyma 144, 168, 219